

Die Oestrogenausscheidung im Harn
nach Injektion
verschiedener Oestradiolester

von

LUDWIG BARTH

1961

Aus der I. Universitäts-Frauenklinik und Hebammenschule München
Direktor: Professor Dr. W. B i c k e n b a c h

D I E O E S T R O G E N A U S S C H E I D U N G I M H A R N
N A C H I N J E K T I O N V E R S C H I E D E N E R
O E S T R A D I O L E S T E R

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin

verfasst und vorgelegt
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der
Ludwigs-Maximilians-Universität
zu
M ü n c h e n

von
Ludwig Barth
aus
Günzburg/Donau

1960/



Berichterstatter:

Privatdozent Dr. Rudolf K a i s e r

Mitberichterstatter:

Professor Dr. Werner B i c k e n b a c h

Dekan:

Professor Dr. ~~Dr. Hermann E y e r~~

Seitz

Tag der mündlichen Prüfung 10.10.61

Inhalt

	Seite
Einleitung	1
A. Allgemeiner Teil:	
Die oestrogenen Substanzen	
1. Chemische Struktur	2
2. Stoffwechsel	5
3. Messung	7
4. Ausscheidung	8
5. Wirkung der Oestrogene	10
B. Methodischer Teil:	
1. Biologische Methoden zur Bestimmung der Oestrogene	11
2. Chemische Methoden zur Bestimmung der Oestrogene	12
3. Angewandtes Verfahren nach J. B. B r o w n	14
C. Spezieller Teil:	
Die Oestrogenausscheidung nach Injektion von verschiedenen Oestradiolestern	
I. Literaturangaben	22
II. Eigene Versuche	24
D. Diskussion der Ergebnisse	34
Zusammenfassung	42

Einleitung

Im Jahr 1923 ist die brunstauslösende Wirkung des Follikelsaftes erkannt worden. Seither sind über Entstehung, chemische Struktur, Mengenverhältnis, Stoffwechsel und Ausscheidung der oestrogenen Stoffgruppe durch die physiologisch-chemische, die biologische und die klinische Forschung ständig neue Erkenntnisse gewonnen worden, die die gynäkologische Hormontherapie sehr gefördert haben.

Chemische Hormonanalysen des Harnes sind methodisch einfacher als die biologische Messung der Hormonaktivität und erlauben weiterhin eine getrennte Messung der Oestrogenfraktionen. Sie haben deshalb in den letzten 20 Jahren für den Kliniker eine besondere Bedeutung gewonnen. Dies gilt besonders für die letzten 3 Jahre, seit J. B. Brown (13) 1955 ein chemisches Verfahren veröffentlicht hat, durch das die getrennte Extraktion der 3 primären Oestrogenfraktionen Oestradiol, Oestron und Oestriol aus dem Urin und ihre quantitative Erfassung in der Größenordnung 5 μ /24-Stundenausscheidung möglich ist. Damit konnte erstmals das Verhalten der Oestrogenausscheidung im Verlauf des normalen Menstruationszyklus und während der Schwangerschaft mit einer chemischen Methode ausreichend genau ermittelt werden. - Derartige Verfahren können auch die Grundlage für eine richtige Dosierung von Oestrogenen in der Therapie liefern, da Höhe und Dauer der Oestrogenausscheidung im Urin Rückschlüsse auf die täglich im Organismus produzierten Hormonmengen erlauben.

Es war Aufgabe dieser Arbeit, die Oestrogenausscheidung nach Injektion verschiedener Oestradiolester mit dem Verfahren von J. B. Brown zu untersuchen. Dadurch sollten Aussagen über folgende praktisch wichtige Fragestellungen gemacht werden:

- a) Über den Abbau der einzelnen Ester im Organismus
- b) Über die prozentuale Ausbeute an Harnoestrogenen nach Injektion der verschiedenen Ester
- c) Über die Höhe der Oestrogenproduktion während der Geschlechtsreife der Frau
- d) Über das Mengenverhältnis der Oestrogenfraktionen untereinander.

A. Allgemeiner Teil

Die oestrogenen Substanzen

Zum Verständnis der im speziellen Teil behandelten Probleme sind einige Ausführungen über die Chemie, den Stoffwechsel, die Ausscheidung und die Wirkung von Oestrogenen erforderlich.

1. Chemische Struktur

Der Göttinger Physiologe B e r t h o l d hat 1849 durch systematische Kastrations- und Transplantationsversuche die ersten methodischen Grundlagen der endokrinologischen Forschung geliefert. Er wies den Weg, der vom biologischen Wirkungsnachweis über Isolierung, Strukturaufklärung und chemische Synthese eines Stoffes zu seiner gezielten Anwendung in der Therapie führt.

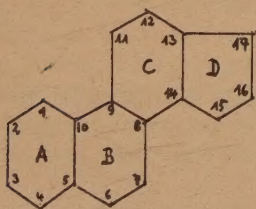
Wichtige Stationen in der Forschung sind die Ergebnisse von P a p a n i - c o l a o u, S t o c k a r d und E v a n s (119;45), die 1917 an Ratten und Meerschweinchen erstmals Veränderungen im Scheidenabstrich während der Brunst bemerkten. S e i t z (113) machte 1919 darauf aufmerksam, dass bei Frauen die nächste Menstruation ausbleibt, wenn zur Zeit der Follikelreifung Röntgenbestrahlung im Bereich des Genitaltraktes durchgeführt wird. A l l e n und D o i s y (1) wiesen dann 1923 im Saft des reifen Follikels einen brunsterregenden Stoff nach, mit dem sie bei kastrierten Mäusen einen Brunstzyklus auslösten. Durch Standardisierung dieses Versuches schufen sie den bekannten Allen-Doisy-Test, der eine qualitative und auch ungefähre quantitative Erfassung des sogenannten Follikelhormones ermöglichte. 1925 gelang L o e w e (46) damit der erste Nachweis von Follikelhormon im Harn.

Von der erfolgreichen Isolierung eines α -Follikelhormones (Oestron, Theelin, Menformon) in kristalliner Form aus Schwangerenurharn berichteten bereits 1929 B u t e n a n d t (46) in Göttingen und unabhängig davon D o i s y und Mitarbeiter (36) in USA und L a q u e u r und Mitarbeiter (70) in Amsterdam. - 1931 hatte H. W i e l a n d (131) mit der Feststellung der Summenformel $C_{18}H_{22}O_2$ die Steroidnatur des Oestron erkannt.

B u t e n a n d t (22;21) fand, dass der A-Ring des Steranskelettes ungesättigt ist und an C_3 eine Hydroxylgruppe trägt, ferner wies das Oestron eine Methylgruppe bei C_{13} und eine Ketogruppe an C_{17} auf. - 1930 isolierte G. F. M a r r i a n (84) das Oestriol (Trihydroxyoestron, Theelol) aus Schwangerenharn. -

Das Oestradiol (Dihydroxyoestron) stellten S c h w e n k und H i l d e b r a n d t (112) 1933 durch Hydrierung des Oestrans dar. Später wurde α -Oestradiol in Schweineovarien (D o i s y und Mitarbeiter 1935, 36; 37; 38), α - und β -Oestradiol (22) im Schwangerenharn, im Harn trächtiger Stuten, in der Plazenta, sowie in Hengst- und Menschenhoden gefunden (W i n t e r s t e i n e r und Mitarbeiter 1936, 132; 133; 134; 3). Im biologischen Testversuch erwies sich das β -Oestradiol von den beiden Isomeren als das Wirksamere. D o i s y und Mitarbeiter (122) stellten später auch fest, dass es das primär im Ovarium gebildete Hormon ist.

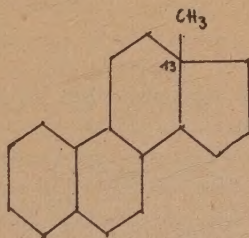
Der biologisch einheitliche Begriff "Follikelhormon" umfasst also eine ganze Reihe von oestrogenen Substanzen mit demselben chemischen Grundgerüst, dem Cyclo-pentano-perhydro-phenanthren mit der Summenformel $C_{17}H_{28}$. Sie sind im engeren Sinn Oestranderivate. Oestran unterscheidet sich vom Steran nur durch die Methylgruppe an C_{13} . - Die Oestrogene sind ungesättigte Verbindungen (A-Ring) und tragen alkoholische oder Keto- gruppen. Auf dieser Eigenschaft beruhen die wichtigsten Nachweisreaktionen (137). Sie sind leicht löslich in Aether, Alkohol, Chloroform, Aceton, pflanzlichen Ölen und wegen ihrer phenolischen Struktur auch in wässrigen Alkalien (77; 50).



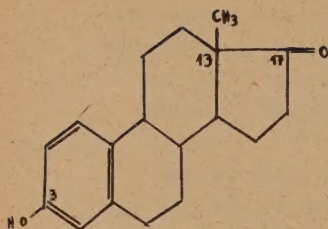
Cyclo-pentano-perhydro-phenanthren

Steran

$C_{17}H_{28}$

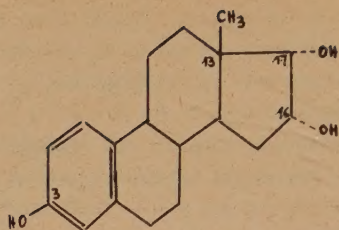
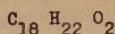


Oestran



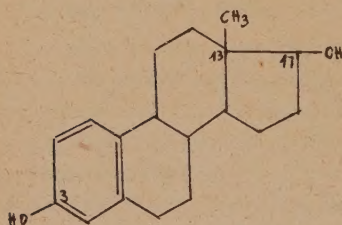
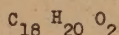
1,3,5:10-Oestratrien-3β-ol-17-on

Oestron



1,3,5:10-Oestratrien-3,17β,16-triol

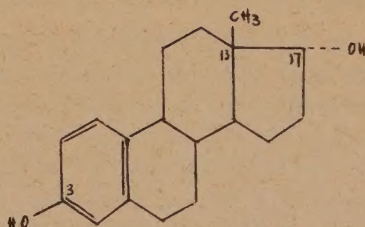
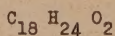
Oestriol



α - Oestradiol

cis-Form

1,3,5:10-Oestratrien-3,17β-diol



β-Oestradiol

trans-Form

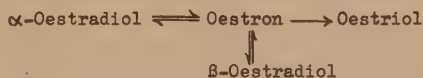
Aus dem Harn trächtiger Stuten wurden ausserdem noch das sogenannte Equilin, das Equilenin, und das Hippulin erhalten, die sich vom Oestron nur durch die grössere Zahl der Doppelbindungen unterscheiden (52). Es kommt ihnen jedoch keine chemische Bedeutung zu.

In neuester Zeit im Harn nachgewiesene Oestrogene werden als Zwischenglieder des Oestrogenstoffwechsels gedeutet; Es handelt sich um ein 18-Oxyoestron (81), ein 16α-Oxyoestron (83), ein 16-Oxyoestradiol-17β (80) und ein 16-Epioestriol (18; 31; 86).

Ausser den natürlichen gibt es eine grosse Anzahl von synthetischen Oestrogenen, die chemisch keine Beziehung zum Follikelhormon besitzen. C o o k, D o d d s und Mitarbeiter (33;27) stellten als erste ein Stilbenderivat, das Dioxyäthylstilben dar. Seitdem sind über 100 synthetische oestrogene Stoffe entwickelt worden. Sie zeichnen sich vor den natürlichen Oestrogenen dadurch aus, dass sie peroral wirksamer sind als diese parenteral, zeigten jedoch bei ihrer klinischen Verwendung in zahlreichen Fällen toxische, vor allem intestinale Nebenwirkungen (Mattigkeit, Übelkeit, Erbrechen).

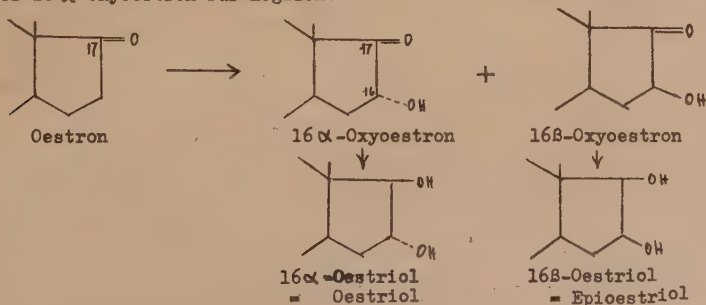
2. Stoffwechsel der Oestrogene

Oestrogene können in den Ovarien aus Acetaten bzw. Cholesterin oder anderen Steroiden, die im Verlauf der Biosynthese entstehen, z. B. den Androgenen, aufgebaut werden. Die Biosynthese wird dort nach den heutigen Vorstellungen nicht autonom geregelt, sondern vom Hypophysenvorderlappen aus mittels des Follikelreifungshormones (FSH) gesteuert. Es gilt als gesichert, dass α -Oestradiol das Primärprodukt, Oestriol das Endprodukt ist (77; 30). Anscheinend bestehen folgende Zusammenhänge (5; 41):



Die Reduktion von Oestron zu Oestradiol wird katalysiert von einer Glucose-6-phosphat-dehydrogenase in Gegenwart von Glucose-6-phosphat und TPN. Ausserdem soll nach P e a r l m a n noch ein von ihm nicht genauer definiertes "gelbes Ferment" notwendig sein (97; 118; 83).

Für die Biogenese des Oestriol hält M a r r i a n (85) folgenden Weg über 16 α -Oxyoestron für möglich:



Oestron wird also an C_{16} hydrolisiert, wobei viel 16α -Oxyoestron und wenig 16β -Oxyoestron entsteht. Diese Zwischenglieder werden dann zu den beiden Epimeren 16α -Oestriol und 16β -Oestriol weiter reduziert. Allerdings ist 16β -Oxyoestron, das hypothetische Bindeglied zwischen Oestron und 16β -Oestriol noch nicht aufgefunden worden. Vom 16α -Oxyoestron werden aber im Schwangerenurin bis zu $3\text{mg}/24$ Stunden ausgeschieden, sodass es als ein Oestrogenmetabolit von erheblicher Bedeutung gelten kann. - Das 16β -Oestriol findet sich im Harn nur in geringer Menge.

Wertvolle Aufschlüsse über den Metabolismus der Oestrogene brachten in den letzten Jahren Isotopenversuche. H e u s g h e m und V e r l y (58) liessen z. B. Lebergewebe von Ratten und Kaninchen auf C^{14} -markierte Oestronlösung einwirken und fanden anschliessend neue phenolische Steroide im System, die sie als Oestradiol und Oestriol identifizieren konnten. Damit war erstmals der Beweis für die Umwandlung von Oestron in Oestradiol in der Leber erbracht. Ausserdem beobachteten die Autoren einen raschen Abbau des Oestron durch Aufspaltung des Fünferinges und Umwandlung des phenolischen Ringes in einen gesättigten. Als sie Kaninchen C^{14} -markiertes Oestron intravenös injizierten, war dieses schon nach kurzer Zeit im Blut kaum mehr nachzuweisen. Dafür fanden sich zahlreiche neutrale, saure, ketonische und nicht-ketonische Metabolite im Blut, die z. T. ätherlöslich, z. T. wasserlöslich waren. Es sieht demnach so aus, als würde das injizierte Hormon sofort zur Inaktivierung reversibel gebunden und dann rasch den Geweben zugeführt, die es irreversibel um- und abbauen. Die Metabolite erscheinen nach kurzer Zeit im Blut und werden durch die Nieren ausgeschieden oder in der Leber gebunden an Glucuronsäure und Schwefelsäure. Es fällt jedoch auf, dass immer nur ein kleiner Teil injizierter Oestrogene im Harn erscheint. Eine Bindung der Oestrogene an Eiweiss erscheint fraglich, da die Hydrolyse der Blutproteine nur eine sehr schwach radioaktive Fraktion ergibt.

L e v i t z, C o n d o n und D a n c i s (79) durchströmten Plazenten 35 Minuten lang mit C^{14} -markiertem Oestradiol. Danach fanden sich 58% des Oestradiol in Oestron umgewandelt. Nach Durchströmung von Plazenten mit Oestron- $16-C^{14}$ war ein ähnlicher Prozentsatz in Oestradiol umgewandelt. Eine Umwandlung in Oestriol wurde nicht beobachtet.

R y a n und E n g e l (IX) bestätigten diese Fähigkeit der Plazenta, fanden sie aber auch in geringem Masse im Gewebe von Leber, Niere, Nebenniere, Mamma, Endometrium, Myometrium und Ileum. Hodengewebe soll besonders rasch

Oestron in Oestradiol umwandeln.

B i s k i n d zeigte 1942, dass ein Fehler der Vitamine des B-Komplexes Thiamin und Riboflavin und ebenso ein langdauernder Eiweissmangel zu einem Versagen der Inaktivierungsfähigkeit der Leber führt. Besonders wichtig sei die Zufuhr schwefelhaltiger Aminosäuren wie z. B. Methionin.

Nachdem S i e b k e festgestellt hatte, dass grosse Mengen von versuchsweise injiziertem Oestrogen mit den Faeces ausgeschieden werden, lag die Vermutung eines enterohepatischen Kreislaufes der Oestrogene nahe. T w o m b l e y (122) wies ihn durch Versuche mit radioaktivem Dibromöestron nach. Er gelangte zu dem Ergebnis, dass etwa 4% des injizierten Hormones mit dem Urin, aber ca. 70% mit der Galle ausgeschieden werden. Nach der Rückresorption der Galle im Darm ist der Prozentsatz der Oestrogene in den Faeces allerdings nicht mehr höher als der im Sekundärharn. -

Oestrogene kommen ferner auch im Kolostrum und im Speichel vor.

3. Die Messung der Oestrogene

Gemessen werden die Oestrogene biologisch in Mäuseeinheiten (ME) und Ratteneinheiten (RE), chemisch in μ . Dabei entsprechen 1 RE = 3 ME nach Laqueur. Nach Berger ist 1 RE = 5 ME.

Die Hygienekommission des Völkerbundes hat ein Standardpräparat des kristallisierten Oestron bereiten lassen, von dem die Internationale Wirkungseinheit (IE) abgeleitet ist:

1 IE = 0,001 mg = 1μ des Standardpräparates.

Der Pharmazeut gebraucht daneben noch die Internationale Oestradiolbenzoateinheit (IBE):

1 IBE = 0,001 mg = 1μ des Oestradiolbenzoatpräparates.

Es entsprechen in ihrer Wirkung (90):

1 mg Oestriol	=	75 ME
1 mg Oestron	=	8 000 ME
1 mg Oestradiol	=	75 000 ME

4. Die Ausscheidung der Oestrogene

Über die Konzentration der Oestrogene im Blut, wo sie teils frei, teils in gebundener Form vorliegen (3), können keine genauen Angaben gemacht werden. - P u c k (105) fand im peripheren Blut der geschlechtsreifen Frau 0,075 bis 0,4 μ Oestriol pro ccm Plasma, P r e e d y (99) 0,07 μ Oestradiol, 0,2 μ Oestron und 0,29 μ Oestriol pro 100 ccm Plasma, V a r a n g o¹(125) 7 μ Oestradiol/Oestron und 0,7 μ Oestriol pro 10 ccm Plasma. - In der Schwangerschaft ergaben fluormetrische Bestimmungen Mittelwerte von 11,8 μ Oestradiol/Oestron und 5,17 μ Oestriol pro 10 ccm Plasma (125), bzw. von 1,25 μ bis 2,93 μ Oestradiol; 2,65 μ bis 10,3 μ Oestron; 4,28 μ bis 17,5 μ Oestriol pro 100ccm Plasma (99).

Über die Oestrogenausscheidung im Urin liegen viele Arbeiten vor. Es ist bemerkenswert, dass die Oestrogene im Harn vorwiegend nicht in freier, ätherlöslicher Form gefunden werden. Hydrolyseversuche mit Enzymen ergaben, dass Oestron meist mit Schwefelsäure und Benzoessäure verestert auftritt und Oestriol hauptsächlich als Salz der Glucuronsäure erscheint. Das Oestradiol geht alle diese Verbindungen ein (51). Im biologischen Test ist das Salz völlig unwirksam.

Mit biologischen Methoden wurden meist Werte von mehreren Hundert ME (42; 114; 82; 32; 4; 94 u. a.) und RE (115; 53; 78 u. a.) pro Tag im Urin geschlechtsreifer Frauen gefunden.

Mit fluorimetrischen und spektrophotometrischen Methoden erfassten andere Autoren im 24-Stundenurin von Frauen im geschlechtsreifen Alter bis zu 80 μ Oestron/Oestradiol (87), bis zu 45 μ Oestron (64; 60; 9; 87; 116), bis zu 90 μ Oestriol (67) und Gesamtoestrogene von 10 bis 36 μ (124) bzw. 30 bis 180 μ (65) bzw. 50 bis 40 μ (71).

Nach B r o w n (13; 14; 15; 16; 17) und Arbeiten des eigenen Labors (108) wurde aus 25 normalen Zyklen folgende durchschnittliche Tagesausscheidung berechnet:

$$\begin{array}{l} 4 \pm 1 \mu \text{ Oestradiol} \\ 10 \pm 2 \mu \text{ Oestron} \\ 15 \pm 3 \mu \text{ Oestriol} \end{array}$$

Die Oestrogenausscheidung während des Zyklus zeigt eine charakteristische Kurve: Bis zum 10. Tag werden um 2γ Oestradiol, $5 \pm 2\gamma$ Oestron und $5 \pm 2\gamma$ Oestriol pro 24 Stunden ausgeschieden. Die Werte steigen dann an und erreichen dann kurz vor dem Ovulationstermin die Maxima von $10 \pm 2\gamma$ Oestradiol, $22 \pm 5\gamma$ Oestron und $33 \pm 8\gamma$ Oestriol. Zwischen dem 16. und 20. Tag sinken sie ab und steigen um den 22. Tag nochmals leicht an. Unmittelbar vor der Blutung sinken sie auf das Ausgangsniveau zurück (14; 15; 16; 68).

Während der Schwangerschaft steigt die biologisch gemessene Oestrogenaktivität im 24-Stundenharn von anfangs wenigen tausend ME auf ca. 100 000 ME in der Spätschwangerschaft (138; 108; 89; 55; 94; 6; 128; 93 u. a.). S m i t h und S m i t h (115) erhielten mit chemischen Methoden am Ende der Gravidität 100γ Oestradiol, 890γ Oestron und 30 000 Oestriol pro Tag. T o m p s e t t (124) gibt als Maximalwert der Gesamtoestrogene 20 000 γ /24-Stundenurin an. - E i c h e n b e r g e r, H o f m a n n und später K e l l e r (42; 61) beobachteten, dass die Oestradiol/Oestron- und die Oestriolfraction während der Schwangerschaft zueinander parallel ansteigen im Verhältnis 1 : 10.

Nach B r o w n (15) und Arbeiten des eigenen Labors (108) werden um die 7. Schwangerschaftswoche ca. 50γ Oestradiol, 100γ Oestron und 200γ Oestriol pro Tag ausgeschieden, im 10. Monat ca. 600γ Oestradiol, 1000γ Oestron und 20 000 bis 40 000 γ Oestriol. - Der Oestriolanstieg ist hier also stärker ausgeprägt als der von Oestradiol und Oestron. Während der Schwangerschaft ist der enorme "Überlauf" einerseits und die Salz- und Esterbindung andererseits wohl ein Schutz des Körpers gegen die hohen, plötzlich gebildeten Oestrogenmengen (41; 19). Etwa am 5. Wochenbettstag sind die ausserhalb der Schwangerschaft üblichen Werte wieder erreicht (92).

Noch viele Jahre nach dem Aufhören der Menstruation werden Oestrogene im Ovarium gebildet. Die Absonderung erlischt individuell verschieden rasch (56). M c. B r i d e (87) ermittelte bei Untersuchungen an normalen klimakterischen Frauen, die sich seit 4 bis 30 Jahren in der Menopause befanden, mit dem Brown'schen Verfahren ein Mittel der Harnausscheidung von:

3,34 γ	(0 - 10,8 γ)	Oestradiol
1,84 γ	(0 - 7,2 γ)	Oestron
0,54 γ	(0 - 5,6 γ)	Oestriol pro Tag.

Am meisten wird also Oestradiol ausgeschieden und zwar, wie der Verfasser betont, in der ~~Phase~~^{1. Phase} der Ruhephase des Zyklus und ohne zyklische Schwankungen. - Entsprechende Ergebnisse brachten vaginalcytologische Untersuchungen (94; 89; 118).

Erst im Senium herrscht völliger Oestrogenmangel.

5. Physiologische Wirkung der Oestrogene

Die Oestrogene bewirken die Ausbildung der primären und sekundären weiblichen Geschlechtsmerkmale. Dies geschieht dadurch, dass sie den Gehalt an Eiweiss und Pentosenucleinsäure im Myometrium und Endometrium steigern (B r o d y; 12; 58; 125), ausserdem regen sie das Epithel zur Proliferation an (97), und lösen ein Wachstum des Gefässsystems aus. Ähnlichen Effekte werden an den Mammae, der Vagina, den Cervixdrüsen (105; 60; 106; 121; 38; 55) und dem Beckengürtel beobachtet. - Verschiedentlich wird ein Einfluss der Oestrogene auf die Basaltemperatur im Sinne eines hypothermischen Effekts beschrieben. Den hyperthermischen Effekt des Progesterons sollen sie aber steigern (68; 38; 109;). - Die Oestrogene wirken sich ferner auf die Behaarung, die Pigmentierung, den Blutzuckerspiegel, das Blutbild (23; 27) den Elektrolythaushalt und das Knochen- und Knorpelsystem aus (119).

B. Methodischer Teil

1. Biologische Methoden zur Bestimmung der Oestrogene

Die erste Messung der Wirkung des damals noch einheitlich gedachten "Follikelhormones" wurde 1923 möglich mit dem bekannten A l l e n - D o i s y - T e s t (1). Er stützt sich auf die Ergebnisse von P a p a - n i c o l a o u, S t o c k a r d (119) und E v a n s (43), die an Ratten und Meerschweinchen erstmals die Veränderungen des Scheidenabstrichbildes während der Brunst bemerkt hatten. Kriterium des Tests ist die Zeit, die nach der Injektion der zu prüfenden Substanz vergeht bis zum Auftreten eines sog. reinen Schollenstadiums der Scheide bei kastrierten weiblichen Mäusen oder Ratten. Ein anderer biologischer Test (34) benützt als Kriterium den Termin der vorzeitigen Öffnung der Vagina bei infantilen (d. i. 18 - 20 Tage alten) Ratten. Sie kann 6 - 8 Tage nach der subcutanen Injektion der auf diesen Test bezogenen Einheit beobachtet werden (Oestriol ist dabei 4 mal wirksamer als Oestron). Andere Testmöglichkeiten ergeben sich in der Beobachtung von Vergrößerung und Sekretfüllung des Uterus, von Reifeerscheinungen in den Ovarien, der Bildung vaskularisierter corpora lutea ("Blutpunkte") usw. nach Gaben von Oestrogenen (45; 44). P a r k e s hat sogar die Verweiblichung des Gefieders bestimmter Hühnerrassen als Maßstab für die Oestrogenwirkung herangezogen (96).

Beim Menschen wird die Oestrogenaktivität bestimmt durch die Beobachtung von Veränderungen des Vaginalepithels und durch Endometriumbiopsie (100; 130; 7; 29; 136). Neuerdings sind auch Ausstriche von Urinsediment herangezogen worden (24).

Die biologische Wirkung eines experimentell oder zu therapeutischen Zwecken injizierten Oestrogenes ist davon abhängig, ob es oral, parenteral oder lokal verabreicht wird, auch das Lösungsmittel ist von Bedeutung. Für den regel-gerechten Aufbau des Endometriums bei der Frau müssen z. B. nach B u s c h b e c k (19) 25 mg Oestradiolester i. m. injiziert, aber nur 1 bis 3 mg Oestradiolester in kristalliner Form cutan implantiert werden. - Ausserdem spielen Anzahl und Höhe der innerhalb eines bestimmten Zeitabschnittes verabfolgten Dosen eine Rolle. Das Abhängigkeitsverhältnis der morphologisch prüfbaren Hormonwirkung hat B u s c h b e c k in die Formel gebracht:

$$\text{Dosis} \times \text{Zeitfaktor} = \text{Effekt};$$

in Worten: Ein Mindestspiegel des verabfolgten Hormones muss für eine bestimmte Mindestzeit auf die Keimschicht z. B. des Vaginalepithels einwirken, um z. B. einen proliferativen Effekt zu erzeugen (19).

2. Chemische Methoden zur Bestimmung der Oestrogene

Seit etwa 20 Jahren liegen chemische Verfahren vor, mit denen die Harn-oestrogene in Konzentration von einigen μ /Tagesausscheidung erfasst werden können. Der Zeitaufwand ist gering im Vergleich zu den biologischen Methoden, wenn auch immer noch sehr gross für die klinische Routinediagnostik. Die chemischen Verfahren erfordern aber ein gut ausgerüstetes Laboratorium. Die Resultate biologischer und chemischer Methoden sind dadurch grundsätzlich verschieden, dass hier das Vorkommen bestimmter Molekülstrukturen (in Gewichtseinheiten) erfasst wird, während dort die Aktivität von Wirkstoffen an Funktionsabläufen verglichen wird (40). Der Kliniker kombiniert beide Betrachtungsweisen. Von seinem Standpunkt aus ist eine analytische Methodik erst brauchbar, wenn ihre Ergebnisse biologisch kontrolliert worden sind (102).

Die meisten chemischen Methoden sind sich im Prinzip ähnlich: Nach Hydrolyse wird die Hormonfraktion aus dem Urin extrahiert, gereinigt und in die einzelnen Oestrogenfraktionen zerlegt. - Für die Messung der Fraktionen wird seit langem gravimetrischen oder kolorimetrischen bzw. fluorimetrischen Messungen der Vorzug gegeben (C o h e n und M a r r i a n (25); T a l b o t, W o l f e, M c. L a c h l a n und B u t l e r (121); N o r r e e l und P o l l e s (94); L a w r e n c e und W e r t h e s e n (76); S m i t h, S m i t h und S c h i l l e r (116); S t e v e n s o n und M a r r i a n (117); N a k a o und A i z a w a (91); u.a.).

B a c h m a n und P e t t i t (7) erreichten erstmals eine Trennung in eine Oestriol und eine Oestradiol/Oestronphase auf Grund von Löslichkeitsunterschieden; Oestradiol/Oestron lässt sich mit Benzol oder Äther gut aus dem Harn extrahieren, während sich das Oestriol in wässrigem Milieu besser löst. - J a i l e r (63) baute dieses Verfahren für den klinischen Gebrauch aus. - K e l l e r (71) führte 1953 die Auftrennung des rhen Phenolsteroid-extraktes in die schwach phenolische Oestradiol/Oestronphase und die stark phenolische Oestriolphase auf einer Aluminiumsäule durch. In Fortführung dieses Gedankens gelang es 1955 J. B. B r o w n (13) alle 3 Oestrogene exakt zu trennen. - Vereinfachungen der Brown'schen Methode wurden inzwischen von

J a y l e (66), F u r u h j e l m und W a l l e r (49) und I t t r i c h (62) beschrieben.

Ein schwieriges Problem war immer die Messung der Einzelfractionen, da schon kleinste Verunreinigungen bei den durchwegs optischen Methoden stören. - Die zur Färbung angewandte konzentrierte Schwefelsäure gibt beim Erhitzen mit vielen organischen Verbindungen, so auch mit Steroiden eine gelbe bis braunrote Färbung mit grüner Fluoreszenz, sodass die Messung sowohl kolorimetrisch als auch fluorimetrisch erfolgen kann.

K o b e r (73) schlug diese Färbung 1931 erstmals für die Oestrogene vor mittels verdünnter Schwefelsäure (sog. K o b e r t e s t). In der Folgezeit wurde immer wieder versucht, durch Zusatz von Chemikalien wie Eisessig in Chloroform (L i e b e r m a n n - B u r c h a r d), Phenol (K o b e r), Ehrlichs Diazoreagens (S c h w e n k - H i l d e b r a n d t) diese Anfärbung zu spezifizieren. 1938 verbesserte K o b e r selbst das Verfahren durch Verwendung von B-Naphtolschwefelsäure (74). K l e i n e r konnte nach Anfärben mit Phtalsäureanhydrid noch 0,25% Oestron erfassen. Einfache Phenole wurden nicht mitgefärbt (72). Neuerdings glauben P s c h y r e m b e l und H a l d e r die Spezifität des Kobertestes erhöht zu haben durch ein erweitertes Reinigungs- und Extraktionsverfahren und die Ausschaltung unspezifischer Chromogene durch Restfarbestimmung (25) nach Wasserstoffperoxydzusatz (103).

Versuche, die störende Färbung von Begleitstoffen durch Korrekturen auf Grund von Extinktionsmessungen in verschiedenen Spektralbereichen auszuschalten, führten zuerst V e n n i n g, E v e l y n, H a r k n e s s und B r o w n e (126) aus.

I t t r i c h (62) konnte neuerdings mit einem beachtenswerten Färbungsverfahren bis zu 10 q u a n t i t a t i v e summarische Oestrogenbestimmungen in 1 Stunde durchführen: Er verdünnt ein Hydrochinon-Schwefelsäure-Reagens mit einem Gemisch von para-Nitrophenol (2 Gew. %) und Äthanol (1 Vol. %) in Chloroform auf eine Säurekonzentration von 20 - 30 %. Damit wird der Oestrogenfarbkomplex aus dem Trockenrückstand von 0,1 ccm Vollharn selektiv gefärbt und extrahierbar.

Methoden zur Messung der Fluoreszenz arbeiteten C o h e n und B a t e s (26), J a i l e r (64) und F i n k e l s t e i n (46) aus. N a k a o (91) entwickelte eine mikrofluorimetrische Methode, mit der auch die getrennte Bestimmung der Blutoestrogene durchgeführt werden konnte. -

Einen wesentlichen Fortschritt brachte 1948 die Ultraviolett - Spektrophotometrie nach F r i e d g o o d - G a r s t und H a a g e n - S m i t h (48). Dabei wird die Absorptionsfähigkeit der gereinigten und gefärbten Oestrogenfraktionen im Beckman-Photometer gemessen (Färbung mit 70 %-iger Schwefelsäure). B r e i t n e r und E i c h s t ä t t e r (10) haben die durch spektrophotometrische Messung in verschiedenen Spektralbereichen gewonnenen Extinktionskurven nach der A l l e n' s c h e n F o r m e l (2) rechnerisch ausgewertet.

Die störende Extinktion nicht eliminierbarer Urochrome wird dadurch weitgehend korrigiert.

3. Angewandtes Verfahren nach J. B. B r o w n

Die eigenen Ergebnisse wurden mit dem 1955 veröffentlichten chemischen Verfahren zur Bestimmung der Harnöstrogene von J. B. B r o w n ermittelt, das die Aufspaltung des Oestrogens in die 3 Fraktionen Oestradiol, Oestron und Oestriol auch bei kleinsten Mengen (bis 4μ pro 24-Stundenurin) gewährleistet.

Neu ist daran die verbesserte Reinigung der Oestrogenfraktionen. Durch Methylierung der phenolischen Gruppen wird ihre Löslichkeit verändert. Die Oestrogen-Methyläther können dann leicht von den nichtphenolischen Beimengungen getrennt werden. Die Trennung von Oestron und 17 β -Oestradiol erfolgt durch Chromatographie auf Aluminiumhydroxyd, wodurch zugleich ein weiterer Reinigungseffekt erzielt wird. Die nach einer Verbesserung des Kobertestes gefärbten Fraktionen werden spektrophotometrisch in 3 verschiedenen Wellenlängen im Beckman'schen Apparat gemessen. Beeinflussung der Extinktionswerte durch noch vorhandenes unspezifisches chromogenes Material (sog. background) wird durch Berechnung der Endergebnisse nach der Allen'schen Korrekturformel ausgeschaltet.

B r o w n konnte bei eigenen Recoveryversuchen 80 bis 90 % des zugesetzten Materiales wiedergewinnen.

Die hohe Spezifität der Brown'schen Methode haben B r e u e r und Mitarbeiter belegt durch Vergleich der chemisch bestimmten Oestrogenwerte mit der biologischen Aktivität der phenolischen Extrakte (11). Y o u n g, B u l b r o o k und G r e e n w o o d haben zytologisch die Proliferation

des Vaginalepithels mit der nach Brown bestimmten Oestrogenmenge im Urin verglichen und befriedigende Übereinstimmung festgestellt (128).

Arbeitsvorschrift und Erläuterung der Arbeitsgänge

Bei den Versuchen wurden grundsätzlich die Bedingungen der Originalvorschrift eingehalten.

1. Hydrolyse und Extraktion.

- a) 200 ml einer 24-Stundenurin-Menge werden unter dem Refluxkondensator zum Kochen gebracht, dann mit 30 ml konz. Salzsäure (11 N) versetzt und 60 Minuten lang weitergekocht. Anschliessend erfolgt Abkühlung. Die in konjugierter Form ausgeschiedenen Steroide werden durch die Säurehydrolyse aus ihren Verbindungen in Freiheit gesetzt. Der Refluxkondensator verhindert den Substanzverlust beim Kochen bzw. Verdampfen und erhält den Säure- p_H -Wert während der Hydrolyse aufrecht.
- b) Der abgekühlte hydrolisierte Urin wird zuerst mit 1 x 200 ml, anschliessend mit 2 x 100 ml Äther nach dem 3-Scheidetrichtersystem extrahiert und die saure Fraktion durch Waschen des Äthers mit einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung (80 ml) von $p_H 10,5$ entfernt. Den Ätherextrakt schüttelt man mit 20 ml NaOH (8%ig) kräftig durch. Die NaOH-Schicht, die auch einige Oestrogene enthält, wird mit 80 ml 8%iger gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung teilweise neutralisiert, sodass die Karbonationenkonzentration zunimmt, und noch einmal mit dem Ätherextrakt ausgeschüttelt. Auf diese Weise gelangen die Oestrogene in den Äther zurück, die störenden Substanzen bleiben in der wässrigen Schicht, die verworfen wird. Nun wäscht man den Äther mit 20 ml einer 8%igen gesättigten $NaHCO_3$ -Lösung, um etwa noch vorhandenes Alkali zu neutralisieren. Damit soll ein allzu grosser Oestrogenverlust bei der anschliessenden Reinigung des Ätherextraktes mit aqua dest., das die Bikarbonatreste beseitigt, verhindert werden.

2. Extraktion der Phenolfraction und Methylierung.

- a) Der Ätherextrakt wird in einem 500 ml-Kolben bis zur Trockne verdampft. Den Rückstand löst man sofort in 1 ml Äthanol, um Oestriol, das in Benzol nicht leicht löslich ist, aufzulösen. Der Kolben wird abgekühlt und sein Inhalt mit 25 ml Benzol in einen Scheidetrichter gebracht, der bereits 25 ml Leichtpetroleum enthält. Das Benzol-Leichtpetroleumgemisch extrahiert man mit: 2 x 25 ml aqua dest. und

2 x 25 ml 1,6%iger NaOH. Der Wasserextrakt enthält nun das gesamte Oestriol und kommt in einen verschlossenen 100 ml-Kolben zusammen mit 0,9 g H_3BO_3 + 4 ml 20%iger NaOH.

Der NaOH-Extrakt, der das Oestron/Oestradiol enthält, kommt ebenfalls in einen 100 ml-Kolben unter Zugabe von 0,9 g H_3BO_3 .

- b) Beide Behälter werden in einem Wasserbad auf 37° C erwärmt. Danach fügt man den Gemischen je 1 ml Dimethylsulfat bei, schüttelt kräftig durch und stellt sie erneut 10 bis 30 Minuten lang ins Wasserbad. Der Vorgang wird nach Zugabe von nochmals 1 ml Dimethylsulfat wiederholt. Dieses ersetzt das erste bereits neutralisierte Dimethylsulfat. Nach weiteren 30 Minuten ist die Methylierung beendet.

Die Methylierung der Phenolgruppen ist eine ausgezeichnete Methode zur spezifischen Trennung der Phenole vom nichtphenolischem Material. Dadurch verbessert sich die Löslichkeit, wodurch eine Trennung der Oestrogenmethylether von nichtphenolischen Beimengungen möglich wird. Die Methylierung erfolgt wirksam in alkalischem Milieu bei Anwesenheit von Dimethylsulfat und H_3BO_3 als Puffer (p_H zwischen 10 und 11,5).

3. Entfernung störender Substanzen durch Oxydation und Extraktion der methylierten Oestrogene.

- a) Jedem Kolben werden zugegeben: 10 ml 20%ige NaOH
2,5 ml 40%iges H_2O_2

Das konzentrierte Peroxyd in alkalischer Lösung stellt bei normaler Raumtemperatur das beste Oxydationsreagens dar, um die auf dieser Stufe vorhandenen Verunreinigungen der methylierten Phenolfractionen zu alkalisch löslichen Produkten zu oxydieren und damit zu entfernen.

- b) Die methylierte Oestriolfraction wird mit 25 ml Benzol, die methylierte Oestron/Oestradiolfraction mit 25 ml Leichtpetroleum in Scheidetrichtern extrahiert, nachdem die Lösungsmittel zuerst dazu benutzt werden, die entsprechenden Methylierbehälter zu spülen. - Der Benzol-Leichtpetroleumsextrakt wird mit 2 x 5 ml aqua dest. gewaschen und das Wasser möglichst vollständig abgelassen.

Die beträchtliche Reinigung der Oestrogenextrakte, die man durch den Methylierungsvorgang erreicht, erkennt man daran, dass nun Benzol- und Leichtpetroleumphase fast farblos sind und sich alle sichtbaren Pigmente mit der wässrigen Schicht haben beseitigen lassen.

4. Chromatographie.

Sie führt zu einer Aufteilung in die 3 Oestrogenfraktionen: In das "stark phenolische" Oestriol, in das "schwach phenolische" Oestron und Oestradiol. Neben dieser Trennung beseitigt die Chromatographie weitere Urochrome, die im Rohextrakt noch vorhanden sind.

Bei der chromatographischen Trennung werden standardisierte Glasröhren, die mit einer Alaunerdesäule gefüllt sind, verwendet. Die Säule ist folgendermassen aufgebaut:

Zunächst eine Watteschicht unten in der Chromatogrammtube, dann 2 g Aluminiumoxyd, das mit 3 Tropfen aqua dest. passend aktiviert wird. Zuletzt das Al_2O_3 mit 1 ccm in Essig-Äthanol gewaschenem Sand, der zum Schutze der Säule bei der Zugabe von Lösungsmitteln dient.

Die in Benzol gelöste methylierte Oestriolfraction durchläuft nun die ebenfalls mit Benzol präparierte Alaunerdesäule. Danach wird die Säule gewaschen mit

- a. 12 ml eines Gemisches von 1,4% Äthanol in Benzol. Die durchgelaufene Flüssigkeit entfernt Urinfarbstoffe und wird verworfen.
- b. 15 ml eines Gemisches von 2,5% Äthanol in Benzol. Die passierte Lösung enthält den gesamten Oestriolmethyläther, der gesammelt wird.

Die methylierte Oestron/Oestradiolfraction im Leichtpetroleum giesst man durch eine zweite Alaunerdesäule, die mit Leichtpetroleum präpariert wird. Diese Säule wäscht man mit:

- a. 12 ml eines Gemisches von 12% Benzol in Leichtpetroleum, das anschliessend verworfen wird.
- b. 15 ml eines Gemisches von 40% Benzol in Leichtpetroleum und weiteren 12 ml desselben Gemisches. - Diese Lösung mit dem ganzen Oestronmethyläther wird sorgfältig aufgefangen.
- c. 12 ml Benzol. Damit löst man den gesamten Oestradiolmethyläther heraus.

5. Verdampfung der Lösungsmittel.

Den 3 Oestrogenfraktionen werden Quinol (4 mg) in Äthanollösung (0,2 ml von 2% w/v) und ein kleines Stück porösen Ziegels zugefügt. Die Lösungsmittel destilliert man ab und trocknet den Rückstand am Vakuum.

3 Behälter, die nur Phenol enthalten, werden in gleicher Weise präpariert und dienen später als Vergleichsreagenzien.

Schematische Darstellung des Brown'schen Verfahrens

Hydrolyse des Urins mit HCl



Ätherextraktion

Ätherextrakt

Waschung mit: 1. konz. NaHCO_3 -Lösung (p_H 10,5)

2. NaOH-Lösung

3. 8%iger NaHCO_3 -Lösung

4. aqua dest.

Verdampfung des Äthers

Lösung des Rückstandes mit Äthanol

Zugabe von Benzol und Leichtpetroleum (i. gl. Mengen)



Extraktion mit NaOH

Extraktion mit aqua dest.

NaOH-Extrakt (Oestron/Oestradiol)

Wasserextrakt (Oestriol)

Zugabe von H_3BO_3

Zugabe von H_3BO_3 + NaOH

Methylierung mit Dimethylsulfat bei 37°C

Zugabe von NaOH + H_2O_2

Extraktion mit
Leichtpetroleum

Extraktion mit
Benzol

Waschung mit aqua dest.

methyliertes Oestron/Oestradiol
in Leichtpetroleum

methyliertes Oestriol
in Benzol

Chromatographie auf
einer Al_2O_3 -Säule

Oestronmethyläther

Oestradiolmethyläther

Oestriolmethyläther

Zugabe von je 0,2 ml Quinol

Verdampfen der Lösungsmittel

6. Die quantitative Bestimmung der Oestrogene.

- a) Färbung: Zunächst werden die kristallisierten Oestrogene und die Testreagenzien in 3 ml eines jeweils entsprechenden Quinol- H_2SO_4 -Reagens gelöst und danach 20 Minuten lang im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach raschem Abkühlen werden
- dem 76%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagens + Oestriol : 1 ml aqua dest.
dem 66%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagens + Oestron : 0,5 ml aqua dest.
dem 60%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagens + Oestradiol: 0,2 ml aqua dest.
beigefügt. Die Gefäße kommen für weitere 10 Minuten ins siedende Wasserbad. Um den Färbevorgang zu unterbrechen, muß wieder schnell abgekühlt werden.

Der bei der Zugabe von Schwefelsäure entstehende gelbe, leicht fluoreszierende Farbkomplex ist in seiner Intensität von der Hormonkonzentration und von den enthaltenen Verunreinigungen abhängig. Das Testreagens ist dagegen nur ganz leicht getönt.

- b) Messung: Die Messung der gewonnenen Oestrogene wurde mit dem Beckman-Quarz-Spektralphotometer, Modell DU durchgeführt. Diesem Photometer liegt folgendes Prinzip zugrunde:
- Ein Hohlspiegelsystem ist so angeordnet, daß ein von einer Lichtquelle kommendes Strahlenbündel auf das Littrow'sche Prisma trifft. Hier wird es in seine einzelnen Spektralbereiche zerlegt und wieder reflektiert. Bei einer besonderen Einstellung des Prismas kann man den Lichtanteil einer gewissen Wellenlänge ausblenden, ihn durch die zu messende Lösung schicken und auf eine Photozelle treffen lassen. - Die Belichtungsintensität der Photozelle ist von der Absorption bzw. optischen Dichte der zu untersuchenden Substanz abhängig. Die in der Photozelle entstehenden Potentialdifferenzen, die durch die wechselnde Belichtung bei verschiedenen Wellenlängen verursacht werden, sind an einem Widerstand auszugleichen. Diese Werte kann man an einer Skala ablesen.

Praktische Durchführung:

Hormon- und Vergleichslösungen werden in Cuvetten von $1 \times 1 \times 4$ cm Inhalt abgefüllt und in die Messkassette des Beckman-Apparates eingeschoben. Zunächst wird der Strahlengang durch die Vergleichslösung gelenkt und die Extinktion zum Nullwert justiert. Darauf

wird die dunklere Hormonlösung dem Strahlengang von 480 mμ ausgesetzt. Der jetzt auftretende Wert wird notiert, da er die Differenz der Extinktion zum Testreagens darstellt. Die anschliessenden Messungen werden in der gleichen Weise bei folgenden Wellenlängen durchgeführt:

a. Oestriol- und Oestronfraktion bei	480 mμ	516 mμ	552 mμ
b. Oestradiolfraction bei	480 mμ	518 mμ	556 mμ

c) Die Auswertung der Extinktionswerte:

Der Färbvorgang wird gestört durch die nicht eliminierbaren chromogenen Substanzen des Harns und durch das oxydierende Quinol. Weil dadurch die gewonnen Werte der optischen Dichte verändert sind, muss eine Korrektur vorgenommen werden. Dies geschieht mit Hilfe der bekannten A l l e n'-schen F o r m e l. Die korrigierte Lesart heisst bei Oestriol und Oestron:

$$F_x = 2 (D_{516}) - (D_{480} + D_{552})$$

Sie lautet für Oestradiol:

$$F_x = 2 (D_{518}) - (D_{480} + D_{556})$$

D = optische Dichte.

Man setzt die gemessenen Werte in diese Formeln ein und berechnet die Extinktion.

Die Menge an Oestrogenmethyläthern findet man nach Eintragung der korrigierten Werte auf eine besondere Standardkurve, die mit reinem Oestrogenmethyläther festgelegt wurde. Die abgelesenen Werte werden dann auf die 24-Stunden-Urinausscheidung umgerechnet.

Voraussetzung für ein brauchbares Versuchsergebnis ist die genaue Sammlung des gesamten 24-Stundenurines, da die Hormonausscheidung im Verlaufe eines Tages schwanken kann. Weiterhin sollen zur Zeit der Bestimmung keine Medikamente verabreicht werden, da diese meist chromogene Substanzen enthalten oder ihre Abbauprodukte Farbreaktionen während der Analyse ergeben.

Eine Analyse, die so viele Arbeitsgänge enthält, liefert nur vergleichbare Werte, wenn die vorgeschriebene Qualität und Quantität der Reagenzien, die Temperaturen und Erwärmungszeiten stets genau eingehalten werden. Es dürfen nur einwandfrei reine und trockene Gesamtglasapparaturen verwendet werden, die Verwendung von Hahnfett ist nicht zulässig. Beim

Abdestillieren der Lösungsmittel sollen höchstens 2 Tropfen pro Sekunde überdestillieren, damit keine Hormone mitgerissen werden. - Schleimstoffe geben beim Ausschütteln oft schwerlösliche Schäume, die die Phasentrennung erschweren oder unmöglich machen können.

Die Analyse kann nur nach der Methylierung und nach der Kristallisation der Phenolmethylester unterbrochen werden. - Die Extinktionswerte müssen nach dem Färben rasch ermittelt werden, da die Testlösungen bald nachdunkeln.

Eine einzelne Analyse nach Brown dauert ohne Messung etwa 12 Stunden. Es ist möglich, 2 Analysen nebeneinander durchzuführen, pro Analyse müssen dann etwa 10 Stunden angesetzt werden.

Wiedergewinnungsversuche

200 ccm eines hormonarmen Urines wurden nach dem Brown'schen Verfahren analysiert. Dann wurde derselben Menge des gleichen Urines nach der Hydrolyse eine bekannte Menge Reinoestrogen zugesetzt und ebenfalls die Oestrogenbestimmung durchgeführt.

Die Differenz der beiden Versuchsergebnisse bedeutet den Arbeitsverlust.

Er betrug bei 2 Versuchen im Mittel:

	Zugegebenes Reinhormon in γ	Wiedergewonnene Menge in γ	Verluste in %
Oestriol	130	107	17,6
Oestron	64,5	58,4	9,4
Oestradiol	11,5	8,4	24,6

Die Ergebnisse der Wiedergewinnungsversuche liegen in dem selben Bereich wie die von der technischen Assistentin im chemischen Laboratorium vielfach ermittelten.

C. Spezieller Teil

=====

Die Oestrogenausscheidung im Harn nach Injektion verschiedener Oestradiolester

I. Literaturangaben

Der Organismus hat die Fähigkeit, freie, parenteral zugeführte Oestrogene sehr rasch zu inaktivieren durch Umbau, Bindung oder Zerstörung. Die klinische und theoretische Forschung hat sich deshalb lange darum bemüht, die Verweildauer der aktiven Oestrogene zu steigern. Dies kann nicht einfach durch Erhöhung der Dosen erreicht werden, da überschüssiges Hormon ohne zur Wirkung zu kommen durch die Niere und den Kot ausgeschieden wird, teils gebunden teils in freier Form (Phänomen des Überlaufs nach B u s c h b e c k).

Die beste Anwendung der Buschbeck'schen Gleichung: Dosis $\times$ Zeitfaktor = Effekt liegt theoretisch vor, wenn man die Einzeldosis klein und den zeitlichen Abstand unendlich klein wählt. Am Beispiel des Vaginalepithels hat B u s c h b e c k (19) die Tatsache herausgearbeitet, dass ein Mindestspiegel des verabfolgten Hormones eine gewisse Mindestzeit zur Einwirkung kommen muss, damit ein Effekt am Erfolgsorgan nachweisbar ist. Dieser Fall ist am ehesten bei der Implantation oder Injektion von Oestrogenkristallen gegeben, wo kontinuierlich kleinste Mengen resorbiert werden. Die applizierte Einzeldosis bekommt hierdurch eine protrahierte Wirkung. Für gelöste Hormone suchte man diese auf physikalischem Weg durch Anfertigung von Emulsionen und Suspensionen zu erreichen (29). Die brauchbarste Form zur parenteralen Anwendung der Oestrogene in der Therapie geht auf B u t e n a n d t zurück, der die Verzögerung der Resorption durch Verabreichung von Oestrogen e s t e r n erstmals vorschlug. Diese Bindung wird im Organismus nur langsam verseift, sodass kontinuierlich

kleinste Mengen des Hormons frei werden.

Es finden sich aus neuerer Zeit einige Arbeiten, in denen die Wirkungs-
dauer dieser Ester mit biologischen Kriterien gemessen wurde (129; 8).

P r o s d o c i m i (101) hat Form, Geschwindigkeit und Prozentsatz
des durch die Nieren ausgeschiedenen Oestrogenes nach Injektion von
natürlichem Oestrogen auf chemischem Wege beobachtet. Die Ausscheidung
war "prompt und deutlich und nach 24 bis 28 Stunden komplett". Die Aus-
scheidung nach Injektion von Oestradioldipropionat verlief "langsamer"
und nach Injektion von Dimethylestern war sie "noch mehr verzögert".
B r o w n (16) fand nach einmaliger Injektion von 1 mg bzw. 2 mg
natürlichem Oestradiol in 6 Fällen durchschnittlich 22 % der Injektions-
dosis im Urin wieder. Die Harnöstrogene bestanden durchschnittlich aus
15⁺4 % Oestradiol, 41⁺8 % Oestron und 44⁺11 % Oestriol. Das Ausscheidungsmax
der Gesamtoestrogene trat am Tag der Injektion auf. Oestron und Oestradiol
erreichten das Leerwertniveau nach 2 bis 4 Tagen wieder, Oestriol nach
4 bis 9 Tagen. Seine Ausscheidung hinkte durchschnittlich um etwa 24
Stunden nach.

D i c z f a l u s y und W e s t m a n (30) haben bei oophorektomier-
ten Frauen mindestens 4 Wochen nach der Operation Polyoestradiolphosphat
(PEP) i.m. injiziert. Durch Untersuchung vor der Injektion wurde fest-
gestellt, dass diese Frauen noch kleine Mengen (bis 5%) Gesamtoestrogen
ausschieden. Nach einmaliger Verabreichung von 40 mg bzw. 80 mg PEP trat
eine Erhöhung der Ausscheidung aller 3 Oestrogene auf etwa 40 - 50%
auf, die 2 bis 3 Tage anhielt. Das Maximum von Oestron und Oestradiol
erschien am Tag der Verabreichung, von Oestriol in der Regel erst 24
Stunden später. Eine relativ konstante Erhöhung um 10 bis 20% wurde
über 4 bis 5 Wochen aufrecht erhalten. Im Hinblick auf die Ähnlichkeit
der Ausscheidung von Oestrogenen im normalen Zyklus und nach Injektion
von PEP messen die Verfasser dem PEP grossen Wert in der Substitutions-
therapie bei.

Da bisher weitere verwertbare Angaben über die Grösse der Aus-
scheidung von Oestrogenen nach Injektion von Oestradiolestern fehlen,
wurde eine Reihe diesbezüglicher Untersuchungen durchgeführt.

II. Eigene Versuche

Unseren Ergebnissen liegen 100 Urinalanalysen nach J. B. B r o w n zugrunde. Die Injektionen erhielten 14 Frauen im Alter von 46 bis 66 Jahren, die sich alle in der natürlichen Menopause befanden oder deren Ovarien chirurgisch entfernt worden waren. Die körpereigene Oestrogenproduktion war bei diesen Frauen weitgehend erloschen. Vor Versuchsbeginn wurde 2 Tage lang die noch vorhandene natürliche Oestrogenausscheidung als Ausgangswert in 24-Stundenurin ermittelt. - Nach einmaligen Injektionen erfolgte in 12 Fällen eine 4 bis 8-tägige Kontrolle der Oestrogenausscheidung, solange die Patientinnen zur Verfügung standen. Bei 2 Dauerversuchen wurde die eine Patientin 16 Tage, die andere 9 Tage lang beobachtet.

Folgende 5 Oestradiolester wurden geprüft:

1. Oestradiolbutyrylacetat (Follikosid, Boehringer)

Dosierung: einmalige Injektion von 5 mg bzw. 10 mg

2. Oestradiolvalerianat (Depotprogynon, Schering)

Dosierung: einmalige Injektion von 5 mg bzw. 10 mg

3. Oestradiolcyclopentylpropionat (Depotfemin, Hoechst)

Dosierung: einmalige Injektion von 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg

4. Oestradiolmonobenzoat

a) als Suspension von Kristallen bis 0,1 mm Durchmesser

Dosierung: einmalige Injektion von 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg

b) als Suspension von Kristallen unter 0,05 mm Durchmesser

Dosierung: einmalige Injektion von 10 mg

5. Oestradiolbenzoat, ölgelöst (Progynon, Schering)

a) Dosierung: An 7 aufeinanderfolgenden Tagen Injektionen von je 1 mg

b) Dosierung: An 6 aufeinanderfolgenden Tagen Injektionen von je 5 mg

1. Oestradiolbutyrylacetat

Der Ester wurde 2 Frauen intragluteal in einer Dosierung von 5 mg bzw. 10 mg injiziert.

Bei Frau H., die 5 mg der Substanz erhielt, war der Oestradiolspiegel nur am Tag der Injektion und am 6. Tag p.i. auf 16 bzw. 23 γ erhöht. - Die Ausgangswerte des Oestron betrugen 16 γ und 28 γ . Am 1. Tag nach der Injektion stieg der Wert abrupt an auf 279 γ . Vom 2. Tag an wurde ein langsames Absinken von 139 γ über 56 γ , 41 γ und 20 γ auf 15 γ beobachtet. - Die Oestriolwerte nahmen gegenüber den Ausgangswerten von 8 γ und 12 γ zunächst eher etwas ab, stiegen dann aber auf 47 γ an und lagen am 6. Tag p.i. immer noch über den Ausgangswerten. (Tab. I; Abb. I)

Frau H.

51 Jahre, O-para, Menopause mit 46 Jahren

Totalexstirpation des Uterus und beider Adnexe im Oktober 1958

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol(γ)	Oestron(γ)	Oestriol(γ)	Gesamt-oestrogene(γ)
1	12.10.58	800 ccm	8	16	12	36
2	13.10.58	560 ccm	10	28	8	46
am 14.10. Injektion von 5 mg Oestradiolbutyrylacetat i.m.						
3	14.10.58	680 ccm	16	279	8	303
4	15.10.58	580 ccm	4	139	6	149
5	16.10.58	1080 ccm	2	56	10	68
6	17.10.58	860 ccm	6	41	4	51
7	18.10.58	890 ccm	3	20	47	70
8	19.10.58	1530 ccm	23	15	36	74

Tabelle I

10 mg der Substanz führten bei Frau W. zu einer einmaligen Ausscheidung von 8 γ Oestradiol am 1. Tag p.i. - Oestron zeigte gegenüber den Ausgangswerten eine starke Erhöhung der Ausscheidung mit 257 γ am 1. Tag p.i., die dann langsam über 157 γ und 21 γ am 3. Tag wieder abfiel. Die folgenden Tagesausscheidungen entsprachen wieder ungefähr den Ausgangswerten. - Oestriol war nach praktisch negativen Ausgangswerten zunächst nur geringfügig erhöht. Am 5. Tag p.i. begann die Ausscheidung bis auf 52 γ anzusteigen und lag am 6. Tag weit über den Ausgangswerten. Bei diesem Versuch fällt die starke Harnretention auf, die als eine Wirkung des Hormones angesehen werden kann. Der Urin wurde zunehmend konzentrierter (Tab.II und Abb.II).

Frau W.

62 Jahre alt, II-para, Menopause mit 54 Jahren

Totalexstirpation des Uterus und beider Adnexe im September 1958

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	1.10.58	1600 ccm	∅	∅	1	1
2	2.10.58	1000 ccm	∅	19	∅	19
am 3.10. Injektion von 10 mg Oestradiolbutyrylacetat i.m.						
3	3.10.58	530 ccm	8	256	4	268
4	4.10.58	700 ccm	∅	157	2	159
5	5.10.58	370 ccm	∅	68	7	75
6	6.10.58	350 ccm	∅	21	1	22
7	7.10.58	950 ccm	∅	9	11	20
8	8.10.58	1125 ccm	∅	17	52	69

Tabelle II

2. Oestradiolvalerianat

Der Ester wurde 2 Frauen in Dosen von 5 mg bzw. 10 mg einmalig injiziert.

Frau R. reagierte auf 5 mg Oestradiolvalerianat mit einer Zunahme der Oestradiol-ausscheidung von 10 γ auf 32 γ am 2. und 46 γ am 4. Tag p.i. Am 5. war sie wieder negativ. - Die schon primär relativ hohe Oestronausscheidung zeigte ~~eine~~ eine schwache Zunahme. - ~~Oestriol~~ Oestriol blieb in dem kontrollierten Zeitraum meist auf dem Durchschnitt der Ausgangswerte (ca. 15 γ). Lediglich am 3. und 5. Tag p.i. finden sich Werte von 39 γ bzw. 42 γ, es war also am Ende des Versuchs ^{noch} erhöht. (Tab. III u. Abb.III)

Frau R.

48 Jahre alt, II-para

Exstirpation des Uterus und der Adnexe im Juli 1958

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	28.8.58	1400 ccm	10	40	17	67
2	29.8.58	950 ccm	∅	28	13	41
am 30.8.58 Injektion von 5 mg Oestradiolvalerianat i.m.						
3	30.8.58	1380 ccm	4	63	13	80
4	31.8.58	1410 ccm	32	93	19	144
5	1.9.58	1320 ccm	13	50	39	102
6	2.9.58	1450 ccm	46	35	17	98
7	3.9.58	1700 ccm	∅	41	42	83

Tabelle III

Frau D. wurden 10 mg injiziert. Die an sich schon nicht nennenswerte Oestradiolausscheidung wurde kaum beeinflusst. - Oestron dagegen wies einen Anstieg der Werte von 2 mal 14 μ auf 95 μ am 1. Tag p.i. und auf 268 μ am 2. Tag auf. Nach 153 μ am 3. Tag und 97 μ am 4. Tag war am 6. Tag mit 10 μ das Ausgangsniveau wieder erreicht, was auch eine letzte Kontrollanalyse am 8. Tag p.i. bestätigte. - Die Oestriolausscheidung nahm gegenüber Ausgangswerten von 9 μ und 6 μ am 1. Tag p.i. mit 41 μ deutlich zu und blieb auch an den folgenden Tagen mit 15 μ und 12 μ , 33 μ , 32 μ , 28 μ , 34 μ mehr oder weniger leicht erhöht. Bei der letzten Kontrolle am 8. Tag p.i. entsprachen 3 μ etwa wieder den Ausgangswerten. (Tab.IV und Abb.IV)

Frau D.

56 Jahre, III-para, Menopause seit 1950

Im September 1958 Abrasio, Verschorfung und Ätzen der Uterusschleimhaut, Rtioamputation, vordere und hintere Scheidenplastik

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	23.9.58	970 ccm	0,6	14	9	24
2	24.9.58	1010 ccm	Ø	14	6	20
	am 25.9. Injektion von 10 mg Oestradiolvalerianat i.m.					
3	25.9.58	670 ccm	2	95	41	138
4	26.9.58	1290 ccm	0,4	268	15	283
5	27.9.58	700 ccm	Ø	153	12	165
6	28.9.58	650 ccm	0,5	97	33	130
7	29.9.58	950 ccm	Ø	93	32	125
8	30.9.58	1050 ccm	Ø	10	28	38
9	1.10.58	1020 ccm	1	41	34	76
10	2.10.58	510 ccm	0,7	9	3	12

Tabelle IV

3. Oestradiolcyclopentylpropionat

Die Substanz wurde 4 Frauen in Dosen von 5 mg (2 Frauen) bzw. 7 mg bzw. 10 mg einmalig i.m. injiziert.

Bei Frau Zö. war Oestradiol weder vor noch nach der Injektion im Urin nachweisbar. - Die Ausgangswerte an Oestron lagen bei 10 μ und 7 μ . Sie stiegen langsam an mit 15 μ am 1. Tag, 21 μ am 3. Tag und 42 μ am 5. Tag p.i. - Oestriol stieg an denselben Tagen ebenfalls leicht an mit 3 μ , 19 μ und 14 μ (vor der Injektion 2 μ und 3 μ). Oestron und Oestriol lagen am Schluß des Versuches nicht wesentlich über den Ausgangswerten. (Tab. V und Abb. V)

Frau Zö.

58 Jahre alt

Im Juli 1958 Totalexstirpation des Uterus und beider Adnexe

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	4.8.58	500 ccm	∅	10	2	12
2	5.8.58	500 ccm	∅	7	3	10
am 6.8. Injektion von 5 mg Oestradiolcyclopentylpropionat i.m.						
3	6.8.58	500 ccm	∅	15	3	18
4	8.8.58	800 ccm	∅	21	19	40
5	10.8.58	600 ccm	∅	42	14	56

Tabelle V

Bei Frau Kr. wurde ein weiterer Versuch mit 5 mg Oestradiolcyclopentylpropionat durchgeführt. Die Oestradiolwerte waren vor und nach der Injektion ebenfalls negativ. - Die Oestronwerte stiegen langsam von 27 μ am 2. Tag und 40 μ am 3. Tag auf 80 μ und 90 μ am 4. und 5. Tag und den Höchstwert von 100 μ am 6. Tag an. - Die Oestriolausscheidung war gegenüber den Ausgangswerten von 4 μ und 9 μ am 2. Tag nach der Injektion mit 30 μ erstmals deutlich erhöht. Am 3. Tag p.i. fiel sie mit 17 μ etwas ab, um am 4. und 5. Tag Höchstwerte um 96 μ zu erreichen. Auch am 6. Tag lag sie mit 66 μ noch relativ hoch. (Tab.VI und Abb.VI)

Frau Kr.

66 Jahre, III-para, Menopause seit 1943

Supravaginale Uterusamputation mit li. Adnexen im Mai 1958

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	1.6.58	1300 ccm	∅	∅	4	4
2	2.6.58	1200 ccm	∅	∅	9	9
am 3.6. Injektion von 5 mg Oestradiolcyclopentylpropionat i.m.						
3	3.6.58	1500 cm	∅	∅	15	15
4	4.6.58	1140 ccm	∅	27	32	59
5	5.6.58	1300 ccm	∅	40	17	57
6	6.6.58	1470 ccm	∅	82	96	178
7	7.6.58	1260 ccm	∅	89	92	181
8	8.6.58	1480 ccm	∅	100	66	166

Tabelle VI

Bei Frau A. wurde ein Versuch mit 7 mg durchgeführt. Die Oestradiolwerte lagen mit Ausnahme des 3. Tages p.i. mit 56 γ niedrig. - Oestron zeigte von 15 γ am 1. Tag p.i. ausgehend einen langsamem und gleichmässigen Anstieg auf 75 γ am 5. Tag p.i. - Das Oestriolmaximum von 30 γ wurde am 2. Tag p.i. ausgeschieden. Danach sank die Ausscheidung wieder langsam ab (20 γ - 9 γ - 18 γ). Am Schluß des Versuches lagen Oestron und Oestriol weit über den Ausgangswerten (Tab.VII und Abb.VII).

Frau A.

62 Jahre, II-para, Menopause mit 47 Jahren

Exstirpation eins zystischen Tumors im Oktober 1958

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	3.11.58	650 ccm	Ø	6	4	10
2	4.11.58	1130 ccm	6	10	3	19
am 5.11. Injektion von 7 mg Oestradiolcyclopentylpropionat i.m.						
3	5.11.58	1100 ccm	Ø	15	1	16
4	6.11.58	1080 ccm	1	10	30	41
5	7.11.58	1500 ccm	56	16	20	92
6	8.11.58	1000 ccm	Ø	25	9	34
7	9.11.58	1200 ccm	1	75	18	94

Tab.VII

10 mg des Oestradiolesters führten bei Frau Ke. nach negativen Ausgangswerten zu einer Oestradiolausscheidung von 6 γ am 2. Tag, 22 γ am 3. Tag und 8 γ am 4. Tag p.i. - Oestron stieg von 12 γ bzw. 10 γ post injectionem über 26 γ , 50 γ und 76 γ auf 136 γ am 4. Tag konstant an. - Die Oestriolausscheidung zeigte keine bemerkenswerte Reaktion auf die Injektion bis zum Abschluß des Versuches (Tab.VIII und Abb.VIII).

Frau Ke.

52 Jahre alt, I-para

Im September 1958 Entfernung beider Adnexe

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	14.9.58	980 ccm	Ø	12	22	34
2	15.9.58	1030 ccm	Ø	10	41	51
am 16.9.58 Injektion von 10 mg Oestradiolcyclopentylpropionat i.m.						
3	16.9.58	1080 ccm	Ø	26	Ø	26
4	17.9.58	910 ccm	6	50	14	70
5	18.9.58	800 ccm	22	76	9	107
6	19.9.58	680 ccm	8	136	21	165

Tab. VIII

4. Oestradiolmonobenzoat

a) Als Suspension von Kristallen von 0,1 mm Durchmesser

3 Frauen erhielten einmalig eine i.m. Injektion von 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg

Bei Frau L. konnte Oestradiol nur am 3. Tag nach der Injektion in kleinster Menge nachgewiesen werden. - Die Oestronausscheidung erreichte ihr Maximum am 2. Tag p.i. mit 44 μ um dann wieder abzufallen. - Oestriol fand sich nur am 1. Tag p.i. mit 14 μ mäßig erhöht gegenüber den Ausgangswerten. Im ganzen war die Reaktion auf die Injektion bis zum Abschluß des Versuches gering. (Tab. IX und Abb. IX)

Frau L.

66 Jahre alt, Menopause seit 1942

Im Juli 1958 Vaginalplastik

Nr.	Datum	Urin- Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt- oestrogene
1	10.8.58	750 ccm	Ø	6	10	16
2	11.8.58	700 ccm	Ø	10	8	18
am 12.8. Injektion von 5 mg Oestradiolmonobenzoat als Kristall- suspension i.m. (Korngröße bis 0,1 mm)						
3	12.8.58	900 ccm	Ø	12	14	26
4	13.8.58	700 ccm	Ø	44	8	52
5	14.8.58	1150 ccm	1	9	Ø	10

Tabelle IX

Frau Ze. wurden 7 mg Oestradiolmonobenzoat injiziert. Post injectionem war die Ausscheidung noch 3 Tage lang nicht verändert. Erst am 4. Tag stiegen Oestradiol auf 13 μ , Oestron und Oestriol auf 39 μ bzw. 16 μ an. In den folgenden Tagen fielen die Werte z.T. treppenförmig wieder ab. Sie zeigten im ganzen gesehen keinen ausgeprägten Anstieg. (Tab. X und Abb. X)

Frau Ze.

46 Jahre, I-para, Totalextirpation des Uterus und beider Adnexe, Okt. 1958

Nr.	Datum	Urin- Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt- oestrogene
1	23.10.58	750 ccm	3	5	10	18
2	24.10.58	600 ccm	1	13	20	34
am 25.10. Injektion von 7 mg Oestradiolmonobenzoat als Kristall- suspension i.m. (Korngröße bis 0,1 mm)						
3	25.10.58	700 ccm	3	10	1	14
4	26.10.58	600 ccm	2	9	1	12
5	27.10.58	600 ccm	1	5	∅	6
6	28.10.58	690 ccm	13	39	16	68
7	29.10.58	650 ccm	7	33	6	46
8	30.10.58	600 ccm	6	23	8	37

Tabelle X

Frau K. wurden 10 mg Oestradiolmonobenzoat injiziert. Oestradiol war nach der Injektion nicht nachweisbar. - Die Oestronfraktion zeigte dagegen am 2. Tag p.i. einen Maximalwert von 43 μ gegenüber Ausgangswerten von 18 μ und 15 μ . - Bei der Oestriolausscheidung fällt der einmalige Gipfel von 25 μ am 3. Tag p.i. auf, nachdem die Ausgangswerte sehr gering oder negativ waren. Auch hier war der Anstieg der einzelnen Fraktionen während des Versuches nicht mehr ausgeprägt (Tab. XI und Abb. XI).

Frau K.

47 Jahre alt, II-para. Menopause seit 1957

Im Aug. 1958 supravaginale Uterusamputation

Nr.	Datum	Urin- Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt- oestrogene
1	7.9.58	700 ccm	1	18	∅	19
2	8.9.58	645 ccm	1	15	2	18
am 9.9.58 Injektion von 5 mg Oestradiolmonobenzoat als Kristall- suspension i.m. (Korngröße bis 0,1 mm)						
3	10.9.58	790 ccm	∅	43	1	44
4	11.9.58	810 ccm	∅	38	25	63
5	12.9.58	890 ccm	∅	27	∅	27

Tabelle XI

b) Als Suspension von Kristallen unter 0,05 mm Durchmesser

Frau Zie. erhielt eine einmalige Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat mit kleinerer Kristallgröße i.m. Oestradiol wurde vor der Injektion nicht ausgeschieden. Alle 3 Fraktionen stiegen nach der Injektion sofort an. Oestradiol zeigte das Maximum mit 37 μ am 1. Tag, Oestron mit 260 μ am 2. Tag und Oestriol mit 132 μ am 3. Tag p.i. Bei Abschluß des Versuches waren alle Fraktionen stark erhöht. (Tab. XII und Abb. XII)

Frau Zie.

60 Jahre, Menopause seit 1945, III-para

Vordere und hintere Scheidenplastik im März 1958

Nr.	Datum	Urin-Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt-oestrogene
1	17.4.58	780 ccm	Ø	2	7	9
2	18.4.58	1300 ccm	Ø	10	2	12
am 19.4. Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat als Kristall-suspension i.m. (Korngröße unter 0,05 mm)						
3	19.4.58	1250 ccm	37	76	74	187
4	20.4.58	1150 ccm	17	260	118	395
5	21.4.58	1200 ccm	16	203	132	351

Tabelle XII

5. Oestradiolbenzoat, ölgelöst

a) Injektion von 7 x 1 mg, täglich.

Die Oestradiolausscheidung zeigte bei Frau B. während der Injektionen nur eine geringfügige Beeinflussung, lediglich am 3. und 6. Tag lag sie mit 13 μ bzw. 18 μ über dem Niveau der Ausgangswerte. - Die Oestronausscheidung zeigte dagegen bei Ausgangswerten von 13 μ und 2 μ von der 4. Injektion an einen Anstieg über 46 μ auf 51 μ bzw. 64 μ bzw. 70 μ . Am 3. Tag nach der letzten Injektion war Oestron mit 55 μ immer noch deutlich erhöht. Am 5. Tag waren noch 51 μ nachzuweisen. - Die Oestriolausscheidung stieg nach Ausgangswerten von 13 μ und 2 μ unter den Injektionen gleichmäßig an und erreichte nach der 7. einen Wert von 59 μ . Am 3. Tag nach der letzten Injektion wurde das Maximum von 69 μ ausgeschieden. 8 μ am 5. Tag entsprachen wieder dem Ausgangsniveau. - Alle Fraktionen hatten am Ende des Versuches wieder das Ausgangsniveau erreicht. (Tab. XIII und Abb. XIII)

Frau B.

49 Jahre, III-pars. Menopause seit April 1958

Im November 1958 vordere und hintere Scheiden-Dammplastik und Portio-amputation

Nr.	Datum	Urin- Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt- oestrogene
1	25.11.58	400 ccm	11	13	13	37
2	26.11.58	840 ccm	∅	2	2	4
3 →	27.11.58	700 ccm	∅	7	16	23
4 →	28.11.58	900 ccm	1	4	24	29
5 →	29.11.58	710 ccm	13	19	21	53
6 →	30.11.58	900 ccm	∅	46	42	88
7 →	1.12.58	1450 ccm	5	55	23	83
8 →	2.12.58	1050 ccm	18	64	38	120
9 →	3.12.58	650 ccm	2	70	59	131
10	6.12.58	810 ccm	6	55	69	130
11	8.12.58	850 ccm	∅	21	8	29

Tabelle XIII

b) Injektion von 6 × 5 mg, täglich

Frau Ha. wurde Oestradiolbenzoat in einer Dosierung von 5 mg an 6 aufeinanderfolgenden Tagen intraglutaal appliziert. Die Bestimmung der Oestrogenausscheidung erfolgte bis zum 10. Tag nach der Injektion. Die Oestradiolwerte stiegen nach der 1. Injektion von ∅ auf 1 μ , nach der 2. auf 12 μ , nach der 3. weiter auf 38 μ , nach der 4. und 5. Injektion auf ca. 50 μ an, um nach der 6. und letzten mit Tagesschwankungen wieder abzufallen. Am 7. Tag nach der letzten Injektion war allerdings noch einmal ein Wert von 50 μ festzustellen. Am 10. Tag nach der letzten Injektion war die Oestradiolausscheidung wieder negativ wie die Ausgangswerte.

Die Ausscheidung von Oestron zeigte einen zunehmend stärkeren Anstieg während der Injektionszeit: Am 1. Tag auf 96 μ (gegenüber einem Ausgangswert von 96 μ am Vortag), am 2. Tag auf 173 μ , am 4. Tag auf 230 μ , schliesslich über zwei Werte um 350 μ auf 470 μ am 2. Tag nach der letzten Injektion. Von da an fielen die Oestronwerte mit 114 μ , 54 μ und 129 μ wieder ab. Eine letzte Kontrollanalyse am letzten Tag nach der Injektion ergab mit 9,1 μ Oestron einen dem Ausgangsniveau wieder ungefähr entsprechenden Wert. - Die Ausscheidungsquoten an Oestriol stiegen unter dem Einfluss der Injektionen von Leerwerten um 10 μ langsam und gleichmässig auf 45 μ nach der 4. Einspritzung an. Nach der 5. und 6. Injektion wurden 210 μ bzw. 216 μ ausgeschieden. Am 3. und 4. Tag nach der letzten Injektion erschienen die beiden Maximalwerte von 400 μ . Am 6. Tag nach der letzten Injektion wird die Ausscheidung wieder normal, erreicht aber am 10. Tag mit 24 μ immer noch nicht ganz die Ausgangswerte. (Tab. XIV und Abb. XIV).

Frau Ha.

47 Jahre, II-para

Totalexstirpation des Uterus und beider Adnexe im November 1958

Nr.	Datum	Urin- Tagesmenge	Oestradiol	Oestron	Oestriol	Gesamt- oestrogene
1	15.11.58	1200 ccm	Ø	20	16	36
2	16.11.58	1100 ccm	Ø	26	7	33
3	→17.11.58	1100 ccm	1	96	12	109
4	→18.11.58	1460 ccm	12	173	15	200
5	→19.11.58	1050 ccm	38	143	20	201
6	→20.11.58	1100 ccm	52	230	45	327
7	→21.11.58	1150 ccm	48	350	210	608
8	→22.11.58	1100 ccm	40	334	216	590
9	23.11.58	1100 ccm	16	470	171	657
10	24. 11.58	1450 ccm	30	114	400	544
11	25.11.58	1200 ccm	13	80	400	493
12	27.11.58	1250 ccm	10	54	29	93
13	28.11.58	1400 ccm	47	129	14	190
14	1.12.58	1200 ccm	Ø	9	24	33

Tabelle XIV

D. DISKUSSION

=====

4 verschiedene Oestradiolester wurden geprüft bezüglich der Höhe und Dauer der Oestrogenausscheidung im Harn nach intraglutealer Injektion. Das Verfahren von J. B. Brown ermöglichte einerseits eine quantitative Erfassung der Gesamtoestrogenausscheidung im Harn, andererseits auch eine Auftrennung in die 3 Fraktionen Oestradiol, Oestron und Oestriol, deren Verhalten zueinander Rückschlüsse über den Stoffwechsel der Oestrogene erlaubt.

Leider gelang es aus äußeren Gründen nicht immer, die Oestrogenausscheidung nach der Injektion solange zu verfolgen, bis der Ausgangswert wieder erreicht wurde. Die Frauen konnten ihren gesamten 24-Stundenurin im allgemeinen etwa 1 Woche lang während ihres Klinikaufenthaltes sammeln. In dieser Zeit erhielten sie keinerlei Medikamente, da diese oft chromogene Substanzen enthalten oder Farbreaktionen während der Analyse ergeben, die die photometrische Messung stören oder unmöglich machen. Chirurgische Eingriffe und Bestrahlungen fanden ebenfalls nicht statt.

Die 14 Patientinnen befanden sich in der natürlichen Menopause oder waren beidseitig ovariectomiert. Bei allen Frauen wurde zunächst 2 Tage lang die noch vorhandene Oestrogenausscheidung festgestellt.

Die Ergebnisse der Versuche sind am Schluß der Arbeit in einem Koordinatensystem graphisch dargestellt, dessen Ordinate (x-Achse) die Menge der ausgeschiedenen Hormonfraktion in μ und dessen Abszisse (y-Achse) die Dauer des Versuches in Tagen angibt.

Als Maßstab auf der x-Achse gilt: $20 \mu = 1 \text{ cm}$

als Maßstab auf der y-Achse gilt: 1 Tag = 1 cm

Für die Darstellung der Urintagesmengen gilt:

400 ccm = 1 cm auf der x-Achse

1 Tag = 1 cm auf der y-Achse

Nur in Abbildung XIV mußte wegen der hohen Oestrogenmengen $100 \mu = 1 \text{ cm}$ auf der x-Achse und wegen der langen Dauer des Versuches 2 Tage = 1 cm auf der y-Achse gesetzt werden.

In 4 Gruppen kam jeweils ein Oestradiolester in verschieden hohen Dosen zur Anwendung. In der 5. Gruppe wurde ein Ester an mehreren Tagen injiziert und zwar in unterschiedlicher Dosierung. -

Im folgenden wird zunächst jede der 5 Versuchsgruppen getrennt besprochen.

1. Oestradiolbutyrylacetat erhielten 2 Frauen in einer Dosierung von 5 mg bzw. 10 mg. - Die Ausscheidung ergab bei beiden noch innerhalb von 24 Stunden den maximalen Anstieg des Oestron auf das 12- bis 13-fache der Ausgangswerte. Die Werte sanken in den folgenden Tagen sofort stark ab, am 4. Tag p.i. war bei beiden Frauen das Ausgangsniveau wieder erreicht. - Die Oestriolausscheidung blieb zunächst unbeeinflusst; - am 5. bzw. 6. Tag trat bei beiden Frauen ein Anstieg in 5- bis 6-facher Höhe der Leerwerte auf. - Oestradiol war bei der 5 mg Injektion nur am 1. und 6. Tag p.i. erhöht. Die 10 mg Dosis hatte nur am Tag der Injektion ein geringes Auftreten von Oestradiol zur Folge. Sonst waren die Werte immer negativ.

Von 5 mg Oestradiolbutyrylacetat wurden in 6 Tagen 467 μ als Gesamt-oestrogen ausgeschieden, das sind 9,40% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug 120 μ Gesamtoestrogen.

Von 10 mg wurden in 6 Tagen 551 μ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 5,57% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug 103 μ Gesamtoestrogen.

Oestradiol und Oestron stiegen bei beiden Frauen nach der Injektion gleichzeitig an, der Oestriolanstieg hinkte um 4 bzw. 5 Tage nach. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen lag bei beiden Fällen während der Dauer des Versuches um das Vierfache über den nach Brown ermittelten Durchschnittswerten im Zyklus. - Das (s. Seite 8, F.) relativ hohe Ausscheidungsmaximum von 303 μ bzw. 268 μ Gesamtoestrogen wurden in den ersten 24 Stunden p.i. festgestellt, die Acetatbindung wurde also rasch zerstört, Oestradiolbutyrylacetat erwies sich in diesen Versuchen als ein kurz wirksamer Ester.

Trotz der verschieden hohen Dosen haben beide Frauen annähernd gleichviel Gesamtoestrogen ausgeschieden. Dieser Befund spricht dafür, daß die Ausgangslage von Bedeutung ist, d. h. bei höheren Werten vor der Injektion kann eine relativ größere Oestrogenausbeute nach der Injektion auftreten.

2. Oestradiolvalerianat wurde ebenfalls 2 Frauen in Dosen von 5 mg bzw. 10 mg injiziert. - Die Oestronausscheidung zeigte auf die 5 mg Injektion einen leichten Anstieg am 1. und 2. Tag p.i. - Oestriol war nur am 3. Tag p.i. einmalig auf das Doppelte der Leerwerte erhöht. - Oestradiol stieg am 2. - 4. Tag auf das Vierfache an und war am 5. Tag wieder negativ. - Auf die 10 mg Medikation hin stieg das Oestron am 2. Tag maximal um das 18-fache an. Sechs Tage später war das Leerwertniveau wieder erreicht. - Oestriol war 7 Tage lang etwa um das 3-fache erhöht. - Die Oestradiolausscheidung blieb während des ganzen Versuches unbeeinflusst auf minimalen Werten.
- Von 5 mg Oestradiolvalerianat wurden in 5 Tagen $237\frac{1}{2}$ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 4,7% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug $102\frac{1}{2}$.
- Von 10 mg wurden in 7 Tagen $80\frac{1}{2}$ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 8,01% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug $137\frac{1}{2}$ Gesamtoestrogen.
- Beim 5 mg Versuch wurde Oestradiol deutlich erhöht ausgeschieden, Oestron nur in geringer Menge, Oestriol war 1 Tag später als Oestradiol leicht erhöht. - Beim 10 mg Versuch lag gleichzeitig mit dem Oestronmaximum eine Oestriolerniedrigung vor. - Mit beiden Dosen wurden die durchschnittlichen Brown'schen Zykluswerte (S. 8f) über 5 bzw. 7 Tage um das $3\frac{1}{2}$ -fache bzw. das $4\frac{1}{2}$ -fache überschritten. - Hier fällt besonders beim 10 mg Versuch wieder die starke Vermehrung der Gesamtoestrogene im Harn unmittelbar nach der Medikation auf, die nur wenige Tage anhält: das relativ hohe Ausscheidungsmaximum von $283\frac{1}{2}$ Gesamtoestrogen trat am 2. Tag p.i. auf. Die Esterbindung an die Valeriansäure wurde in diesen Versuchen ebenfalls relativ rasch zerstört.
3. Oestradiolcyclopentylpropionat wurde in Dosen von 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg insgesamt 4 Frauen einmalig injiziert. - Die Oestronausscheidung stieg bei allen Frauen im Laufe von 4 bis 6 Tagen langsam, treppenförmig an, auf das 4 bis 10-fache der Leerwerte. Einmal war es sogar nach negativen Ausgangswerten am 1. Tag p.i. noch nicht nachweisbar. Oestron erreichte während der Beobachtungszeit in allen 4 Versuchen dieser Serie etwa Werte der 7. Schwangerschaftswoche (siehe Seite 8, f.). Oestriol stieg vom 2. bis 4. Tag p.i. auf das 8 bis 10-fache an. Nur beim 10 mg Versuch zeigte es sich nicht wesentlich beeinflusst. - Oestradiol war bei 2 Frauen negativ und blieb es auch post injectionem. Drei Tage nach ^{der} 7 mg- und 10 mg-Injektion stieg es jedoch deutlich an.

Von 5 mg Oestradiolcyclopentylpropionat wurden in 6 Tagen 614 μ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 12,35% der Injektionsdosis. Die Tagesausscheidung betrug im Durchschnitt 110 μ Gesamtoestrogen.

Von 7 mg wurden in 5 Tagen 204 μ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 2,93% der Injektionsdosis. Die Tagesausscheidung betrug durchschnittlich 56 μ .

Von 10 mg wurden in 4 Tagen 195 μ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 1,98% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug 93 μ .

Mit der 5 mg Dosis (Frau Kr.) und der 10 mg Dosis wurde die durchschnittliche Ausscheidung im Zyklus (siehe S. 8, f.) über 6 Tage bzw. 4 Tage um das 4-fache bzw. um das 3-fache überschritten (110 μ /Tag bzw. 93 μ /Tag).

Mit der 7 mg Dosis wurde sie mit 56 μ über 5 Tage genau getroffen.

Erst am Ende der Beobachtungszeit, also am 4. bzw. 5. Tag p.i. wurden die Ausscheidungsmaxima beobachtet. Sie lagen mit 181 μ bzw. 94 μ bzw. 165 μ niedriger als die bei den anderen Estern. Leider konnte diese Serie aus kusseren Gründen nicht länger verfolgt werden. - Die Bindung des Oestradiol an Propionsäure ist nach diesen Versuchen eher für ein Depothormon geeignet.

4. Oestradiolmonobenzoat

a) als Suspension von Kristallen bis 0,1 mm Durchmesser wurde 3 Frauen in Dosen von 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg verabreicht. Oestradiol, Oestron und Oestriol stiegen in allen 3 Fällen nach einer Latenzzeit von 1 bis 3 Tagen geringfügig an, etwa auf das 3-fache der Ausgangswerte.

Von 5 mg Oestradiolmonobenzoat als Kristallsuspension wurden in 3 Tagen 35 μ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 0,72% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug 30 μ .

Von 7 mg wurden in 3 Tagen 21 μ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 0,33% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug 31 μ .

Von 10 mg wurden in 3 Tagen 75 μ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 0,76% der Injektionsdosis. Die durchschnittliche Tagesausscheidung an Gesamtoestrogen betrug 45 μ .

Die durchschnittlichen physiologischen Zykluswerte wurden beim 5 mg und beim 7 mg Versuch über 3 bzw. 6 Tage genau getroffen. Beim 10 mg Versuch wurden sie nur um die Hälfte überschritten. Die Ausscheidungsmaxima lagen mit 52 μ bzw. 68 μ bzw. 63 μ am 2. bis 4. Tag sehr niedrig. Diese Kristallsuspension scheint langsam resorbiert zu werden.

b) Als Suspension von Kristallen unter 0,05 mm Durchmesser. In diesem Versuch mit 10 mg Oestradiolmonobenzoat i.m. in Form kleinerer Kristalle stiegen Oestron und Oestriol innerhalb von 2 bis 3 Tagen viel stärker, nämlich auf das 25-fache der Ausgangswerte an. Oestradiol, das vorher negativ war, erschien während der Beobachtungszeit von 3 Tagen in Mengen von 20 bis 40 μ g im Urin.

Von 10 mg Oestradiolmonobenzoat wurden hier in 3 Tagen 899 μ g als Gesamt-oestrogen ausgeschieden, das sind 9,02% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug 312 μ g.

Die durchschnittlichen Zykluswerte (S. 8, f.) wurde um das 10-fache überschritten. Das Ausscheidungsmaximum erschien am 3. Tag p.i. und lag mit 351 μ g sehr hoch. Der Versuch zeigt zunächst die ohne Frage rasch erfolgende Resorption dieser kleinen Kristalle. Er weist darauf hin, dass der gute Depoteffekt und die entsprechend protrahierte Wirkung eine Folge der größeren Kristallform mit kleinerer Oberfläche ist, da Kristallgröße bis 0,1 mm).

Die Maxima der Oestrogenausscheidung im Harn und der Zeitpunkt ihres Auftretens nach einmaliger Injektion der verschiedenen Oestradiolester.

Oestradiolester	Dosis	Maximum der Gesamtoestrogen-Ausscheidung	Tage p.i.
Oestradiolbutyrylacetat	5 mg	303 μ g	1.
	10 mg	268 μ g	1.
Oestradiolvalerianat	5 mg	144 μ g	3.
	10 mg	283 μ g	2.
Oestradiolcyclopentyl- propionat	5 mg	181 μ g	5.
	7 mg	94 μ g	5.
	10 mg	165 μ g	4.
Oestradiolmonobenzoat als Kristallsuspension			
Korngröße bis 0,1 mm	5 mg	52 μ g	2.
	7 mg	68 μ g	4.
	10 mg	63 μ g	2.
Korngröße bis 0,05 mm	10 mg	351 μ g	3.

Oestradiolester	Dosis	Beobachtungs- dauer in Tagen	durchschnittl. Tagesgesamt- oestrogenaussch. ante inj.	durchschnittl. Tagesgesamt- oestrogenaussch. p.i.	absol. An- stieg
Oestradiolbutyryl- acetat	5 mg	6	42 γ	120 γ	78 γ
	10 mg	6	10 γ	103 γ	93 γ
Oestradiolvalerianat	5 mg	5	54 γ	102 γ	48 γ
	10 mg	6	22 γ	137 γ	115 γ
Oestradiolcyclo- pentylpropionat	5 mg	6	7 γ	110 γ	103 γ
	7 mg	5	15 γ	56 γ	41 γ
	10 mg	4	43 γ	93 γ	50 γ
Oestradiolmonobenzoat als Kristallsuspension					
Korngröße bis 0,1 mm	5 mg	3	17 γ	30 γ	13 γ
	7 mg	6	27 γ	31 γ	4 γ
	10 mg	3	24 γ	45 γ	21 γ
Korngröße unter 0,05 mm	10 mg	3	11 γ	312 γ	301 γ
Oestradiolbenzoat, 7 x 1 mg ölgelöst		7	20 γ	73 ⁺ 16 γ	53 γ
	6 x 5 mg	9	34 γ	415 ⁺ 80 γ	335 γ

Zusammenfassend lassen die 4 Versuchsgruppen erkennen, dass bei allen Estern nach einmaliger Injektion die Oestrogene im Harn erhöht waren innerhalb von 1 bis 5 Tagen (siehe obige Tabelle). Nach Injektion der ölgelösten Ester waren in 3 bis 6 Tagen 6-2% der Injektionsdosis als Gesamtoestrogen im Harn erschienen gegenüber durchschnittlich 22 % in 4 bis 7 Tagen bei den Injektionsversuchen von Brown (16) mit natürlichem Oestradiol. Die Veresterung bringt also eine eindeutige Verminderung der Oestrogenausbeute innerhalb von 3 bis 6 Tagen mit sich. -

Unter den verschiedenen Estern werden Acetat und Valerianat rasch verseift und ausgeschieden, die Leerwerte wurden in dem beobachteten Zeitraum wieder erreicht. Die Maxima waren relativ hoch und erschienen relativ schnell (am 1. bis 3. Tag p.i.). - Beim Oestradiolcyclopentylpropionat lagen die Ausscheidungsmaxima ebenfalls relativ hoch, jedoch erschienen sie relativ spät (4 bis 5 Tage p.i.). - Das Oestradiolbenzoat in der groben Kristallform zeigte in diesen Versuchen die langsamste Resorption: Die Ausscheidungsmaxima lagen in 2-facher Höhe der physiologischen Tagesgesamtoestrogenausscheidung und erschienen erst am 3. Tag p.i. (siehe Tabelle S.39).

In den vorliegenden 6 Versuchen mit einmaligen Injektion^{en} von ölgelöstem Oestradiolestern ist der prozentuale Anteil des Oestradiol an den Gesamt-oestrogenen im Harn relativ gering. Er betrug $7 \pm 2\%$ in 3 bis 9 Tagen, gegenüber $15 \pm 4\%$ in 2 bis 4 Tagen bei den Injektionsversuchen mit ölgelöstem natürlichem Oestradiol von Brown (16). Das durch die Aufspaltung der Esterbildung in kleineren Mengen freiwerdende Oestradiol wird in der Leber vermutlich rasch zu dem biologisch weniger aktiven Oestron reduziert. Dagegen entsteht wegen des zu hohen Angebotes ein sogenannter Überlauf mit hohen Oestradiolwerten, wenn natürliches Oestradiol injiziert wird. - In den wenigen Fällen mit hoher Oestradiolausscheidung bei gleichzeitig relativ niedrigem Oestron und Oestriol (Fall III 18,7% Oestradiol; Fall VII 20,7%; Fall X 18,5%) kann angenommen werden, daß der Umbau in Oestron und Oestriol langsamer vor sich ging. Das wird besonders deutlich bei einem Vergleich der beiden Valerianatversuche: Frau R. (Abb. III) hatte beim 5 mg Versuch nur leichte Erhöhung des Oestron gezeigt, dafür wurde Oestradiol in hohen Mengen ausgeschieden. Frau D. (Abb. IV) reagierte auf Valerianat gerade entgegengesetzt mit starker Erhöhung des Oestron bei praktisch unbeeinflussten Oestradiolwerten.

Die Oestronausbeute war bei unseren Versuchen mit $59 \pm 13\%$ höher als die Oestriolausbeute ($34 \pm 9\%$). Bei Brown war dieses Verhältnis gerade umgekehrt ($41 \pm 8\%$ Oestron; $44 \pm 11\%$ Oestriol).

Prozentuale Verteilung der Oestrogenfraktionen im Harn

nach Injektion von ölgel. Oestradiolestern		nach Injektion von natürl. ölgel. Oestradiol (Brown)
$7 \pm 2\%$	Oestradiol	$15 \pm 4\%$
$59 \pm 13\%$	Oestron	$41 \pm 8\%$
$34 \pm 9\%$	Oestriol	$44 \pm 11\%$

5. Oestradiolbenzoat, ölgelöst

In dieser Gruppe wurden tägliche Injektionen durchgeführt.

- a) 1 mg-Dauerversuch. An 7 aufeinanderfolgenden Tagen wurde einer Frau je 1 mg Oestradiolbenzoat injiziert. Die Oestradiolausscheidung blieb weitgehend unbeeinflusst. - Oestron stieg erst nach der 4. Injektion deutlich an. - Oestriol war ebenfalls vom 4. Tag ab um ca. das 2 - 3-fache erhöht. 5 Tage nach der letzten Injektion waren alle Fraktionen wieder auf dem Ausgangsniveau.

Von 7 mg Oestradiolbenzoat, ölgelöst wurden in dem zusammenhängend beobachteten Zeitraum von 7 Tagen $387\frac{1}{2}$ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 5,53% der Injektionsdosis. Dabei wurden über die Versuchszeit durchschnittlich pro Tag $76\frac{1}{2}$ Gesamtoestrogen ausgeschieden, davon $6 \pm 2\frac{1}{2}$ Oestradiol, $38 \pm 10\frac{1}{2}$ Oestron und $32 \pm 6\frac{1}{2}$ Oestriol. Der Wert des Oestradiol entspricht genau dem nach Brown errechneten physiologischen Zykluswert, Oestron liegt dagegen um das 4-fache zu hoch, Oestriol um das 2-fache.

Insgesamt konnte mit den täglich wiederholten Injektionen von 1 mg Oestradiolbenzoat in öliger Lösung nicht nur für die Dauer des Versuches (7 Tage), sondern noch 3 - 4 Tage länger eine Gesamtoestrogenausscheidung in $2\frac{1}{2}$ -facher Höhe der physiologischen Zykluswerte erzeugt werden. Man kann demnach annehmen, dass die Tagesoestrogenproduktion ca 0,3 mg Oestradioläquivalent beträgt.

- b) 5 mg-Dauerversuch. An 6 aufeinanderfolgenden Tagen wurden einer Frau je 5 mg Oestradiolbenzoat injiziert. - Die Oestradiolausscheidung, die vor den Injektionen negativ war, und bei einer Kontrollanalyse am 10. Tag nach der Injektion ebenfalls wieder negativ gefunden wurde, stieg unter dem Einfluss der Hormongaben gleichmässig an. Die Werte nach der 3. bis 6. Injektion entsprachen der 7. Schwangerschaftswoche (s. S. 8, f), ebenso die Werte am 3. und 7. Tag nach der letzten Injektion. - Oestron stieg steil und gleichmässig an. Das Maximum von $470\frac{1}{2}$ trat am 2. Tag nach der letzten Injektion auf. - Oestriol verhielt sich ähnlich mit Höchstausscheidung am 2. bzw. 3. Tag nach der letzten Injektion.

Von 30 mg Oestradiolbenzoat, ölgelöst wurden während der Injektionstage und der 3 darauffolgenden Tage, also in dem zusammenhängend beobachteten Zeitraum von 9 Tagen ~~wurden~~ $3419\frac{1}{2}$ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 11,41% der Injektionsdosis. Dabei wurden über die Versuchszeit durchschnittlich pro Tag $415 \pm 80\frac{1}{2}$ Gesamtoestrogen ausgeschieden, davon $28 \pm 6\frac{1}{2}$ Oestradiol, $221 \pm 48\frac{1}{2}$ Oestron und $165 \pm 16\frac{1}{2}$ Oestriol.

Insgesamt konnte mit den täglich wiederholten Injektionen von 5 mg Oestradiolbenzoat während der 6 Versuchstage und der 3 folgenden Tage annähernd eine Gesamtoestrogenausscheidung in Höhe des Tagesdurchschnittes einer Frühschwangerschaft erreicht werden. Man kann demnach annehmen, dass die Tagesoestrogenproduktion in der Frühschwangerschaft ca. 3 mg Oestradioläquivalent beträgt. -

Die Verteilung der 3 Fraktionen war jedoch

nicht ganz physiologisch: Oestradiol war mit $28 \pm 6\%$ beteiligt, Oestron mit $221 \pm 48\%$ und Oestriol mit $165 \pm 16\%$. Somit wurde wiederum relativ zuviel Oestron und zuwenig Oestriol ausgeschieden. Der Anteil des Oestriol ist aber nach Brown (64) in der Frühschwangerschaft normalerweise etwa doppelt so hoch wie der des Oestron.

Die prozentuale Ausbeute an Gesamtoestrogen im Harn lag mit 5,53% der Injektionsdosis in 7 Tagen bzw. 11,41% in 9 Tagen in beiden Versuchen mit Ölgelöstem Oestradiolbenzoat unter dem von Brown angegebenen Wert nach Injektion von ungebundenem Oestradiol (durchschnittlich 22% in 4 bis 7 Tagen).

Für die Relation Oestron-Oestriol kann die Beobachtung von Brown (16) und Diczfalusy und Westman (30) bestätigt werden, daß das Maximum der Oestriolausscheidung dem des Oestron nachhinkt (um 1 bis 2 Tage Fall XI, XIII, XIV, um 4 bis 5 Tage Fall I, II). Brown hat gezeigt, daß dies nichts mit einer verzögerten Ausscheidung zu tun hat. Es scheint vielmehr, daß die Umwandlung großer Mengen Oestradiol und Oestron in Oestriol langsamer vor sich geht. Dagegen zeigte bei den physiologischen kleinen Schwankungen der Leerwerte das Oestriol sehr häufig Schwankungen der Leerwerte, die sich reziprok zu den Tagesschwankungen des Oestronspiegels verhielten (Fall I, II, V, IX, XI, XII, XIV).

Gewichtssteigerungen oder andere Nebenwirkungen im Anschluß an die Hormongaben, wie sie einige Autoren (54) beschrieben haben (herpes labialis, Iridocyclitis, Asthma) wurden nicht beobachtet.

Z u s a m m e n f a s s u n g

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst ein Überblick über den heutigen Stand der Oestrogenforschung gegeben. Der methodische Teil fasste die wichtigsten biologischen und chemischen Bestimmungsmethoden zusammen und enthielt eine eingehende Beschreibung des angewandten Verfahrens nach J. B. B r o w n zur getrennten Extraktion und Bestimmung der 3 Oestrogenfraktionen Oestradiol, Oestron und Oestriol.

Im speziellen Teil wurden anhand von Literaturangaben die bisherigen Ergebnisse anderer Autoren über die Fragestellung besprochen.

In eigenen Untersuchungen erfolgte zunächst eine Prüfung des Abbaus von 4 verschiedenen Oestradiolestern bei 12 Frauen, die sich in der Menopause befanden oder deren Ovarien entfernt waren. Die Dosierung betrug jeweils einmalig 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg. Bei den verabfolgten Präparaten handelte es sich um ölgelöstes Oestradiolbutyrylacetat, Oestradiolvalerianat, Oestradiolcyclopentylpropionat und Oestradiolmonobenzoat als Kristallsuspension. Die Ergebnisse waren folgende:

1.) Oestradiolbutyrylacetat.

Von 5 mg bzw. 10 mg Oestradiolbutyrylacetat wurden in jeweils 6 Tagen 9,4 % bzw. 5,5 % der Injektionsdosis mit dem Harn ausgeschieden.

Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug 120μ bzw. 103μ . Er lag um das 4-fache über dem nach B r o w n ermittelten durchschnittlichen Zykluswertem.

Das Ausscheidungsmaximum lag mit 303μ bzw. 268μ relativ sehr hoch und erschien jeweils bereits in den ersten 24 Stunden nach der Injektion.

Die Acetatbindung wurde in beiden Fällen relativ rasch verseift.

2.) Oestradiolvalerianat.

Von 5 mg bzw. 10 mg Oestradiolvalerianat wurden in 5 bzw. 7 Tagen 4,7 % bzw. 8 % der Injektionsdosis mit dem Harn ausgeschieden.

Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug 102μ bzw. 137μ . Er lag um das $3\frac{1}{2}$ -fache bzw. um das $4\frac{1}{2}$ -fache über dem durchschnittlichen Zykluswertem.

Das Ausscheidungsmaximum lag mit 144μ bzw. 283μ relativ hoch und erschien jeweils bereits am 2. Tag p.i.

Die Valerianatbindung wurde in beiden Fällen ebenfalls relativ rasch verseift.

3. Oestradiolcyclopentylpropionat.

Von 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg Oestradiolcyclopentylpropionat wurden in 6 bzw. 5 bzw. 4 Tagen 12,3 % bzw. 1,9 % bzw. 2,9 % der Injektionsdosis ausgeschieden. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug 110 μ bzw. 56 μ bzw. 93 μ . Er lag beim 5 mg Versuch ca. um das 4-fache, beim 7 mg Versuch um das 2-fache und beim 10 mg Versuch um das 3-fache über dem durchschnittlichen Zykluswert.

Das Ausscheidungsmaximum lag mit 181 μ bzw. 94 μ bzw. 165 μ relativ hoch, jedoch erschien es jeweils erst am Ende der Beobachtungszeit (4 bis 5 Tage p.i.).

Oestradiolcyclopentylpropionat wurde also langsamer resorbiert.

4. Oestradiolmonobenzoat.

a) Als Suspension von Kristallen bis 0,1 mm Durchmesser.

Von 5 mg bzw. 7 mg bzw. 10 mg wurden in 3 bis 6 Tagen 0,7 % bzw. 0,3 % bzw. 0,7 % der Injektionsdosis mit dem Harn ausgeschieden. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug 30 μ bzw. 31 μ bzw. 45 μ . Er entsprach beim 5 mg - und 7 mg Versuch dem durchschnittlichen Zykluswert. Beim 10 mg Versuch lag er um die Hälfte darüber.

Die Ausscheidungsmaxima lagen mit 52 μ bzw. 68 μ bzw. 63 μ relativ niedrig und erschienen am 2. bis 4. Tag p.i.

Oestradiolmonobenzoat in dieser Kristallgrösse wurde also innerhalb des beobachteten Zeitraums in relativ sehr geringen Mengen resorbiert.

b) Als Suspension von Kristallen unter 0,05 mm Durchmesser.

Bei einem 10 mg Versuch wurden in 3 Tagen 9 % der Injektionsdosis ausgeschieden. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug 312 μ .

Er lag um das 10-fache über dem durchschnittlichen Zykluswert.

Das sehr hohe Ausscheidungsmaximum von 351 μ erschien am 2. Tag p.i.

Der Abbau von Oestradiolmonobenzoat in dieser Kristallgrösse erfolgte also sehr rasch.

Als Depothormone mit relativ gleichmässiger Ausscheidung eignen sich allem Anschein nach das Oestradiolmonobenzoat als Kristallsuspension mit 0,1 mm Korngrösse und das Oestradiolcyclopentylpropionat.

5. In zwei weiteren Versuchen wurde zwei Frauen Oestradiolbenzoat in ölgiger Lösung in Form täglicher Injektionen kleinerer Dosen (1 mg bzw. 5 mg) verabreicht.

a) 7×1 mg Oestradiolbenzoat ölgelöst.

Von 7 mg Oestradiolbenzoat insgesamt wurden in 7 Tagen 387γ als Gesamtoestrogen mit dem Harn ausgeschieden, das sind 5,5 % der Injektionsdosis. Die Ausscheidung war noch 3 Tage nach der letzten Injektion erhöht. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug $76\pm 16\gamma$ davon $6\pm 2\gamma$ Oestradiol. $38\pm 10\gamma$ Oestron und $32\pm 6\gamma$ Oestriol. Der 9 Tage lang erzielte Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen im Harn liegt doppelt so hoch wie der nach Brown ermittelte durchschnittliche physiologische Zykluswert. - Die Tagesproduktion an Gesamtoestrogen beträgt demnach ca. 0,4 mg Oestradioläquivalent.

b) 6×5 mg Oestradiolbenzoat ölgelöst.

Von 30 mg Oestradiolbenzoat insgesamt wurden in 9 Tagen 3419γ als Gesamtoestrogen ausgeschieden, das sind 11,4 % der Injektionsdosis. Die Ausscheidung war noch 3 Tage nach der letzten Injektion erhöht. Der Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen betrug $415\pm 80\gamma$, davon $28\pm 6\gamma$ Oestradiol, $221\pm 48\gamma$ Oestron und $165\pm 16\gamma$ Oestriol. Der 10 Tage lang erzielte Tagesdurchschnitt an Gesamtoestrogen im Harn entspricht dem von Brown angegebenen Durchschnittswert der 7. Schwangerschaftswoche. - Die Tagesproduktion an Gesamtoestrogen in der Frühschwangerschaft beträgt demnach ca. 3 mg Oestradioläquivalent.

6. Gemessen an der Verabreichung von freiem Oestradiol, wobei Brown in 6 Fällen im Harn einen Anteil des Oestradiol am Gesamtoestrogen von $15\pm 4\%$ in 2 bis 4 Tagen erhielt, führten die Oestradiolester im Durchschnitt zu einer geringen Oestradiolausbeute ($7\pm 2\%$ in 3 bis 9 Tagen).

Der Verlauf der Oestron- und Oestradiolausscheidung ging vorwiegend parallel. Beides spricht für einen raschen Umbau des freiwerdenden Oestradiol in Oestron. Nur in 2 Fällen war das Oestradiol mit 18 % und in einem Fall mit 20 % am Tagesgesamtoestrogen beteiligt. Dieser Befund beruht wohl auf einen Überlauf infolge eines mangelhaften Umbaues von Oestradiol in Oestron und Oestriol.

7. Fast immer hinkte einer Oestron- und Oestradiolerhöhung das Maximum der Oestriolausscheidung nach (um 1 bis 3 Tage in 3 Fällen, um 4 bis 5 Tage in 2 Fällen). Es scheint, dass der Umbau von Oestradiol und Oestron in Oestriol langsam vonstatten geht.

Abb. I

Graphische Darstellung der
Harnausscheidung von
Östradiol, Östron, Östriol
und der Urin-Tagesmengen
bei Injektion von
5 mg Östradiolbutyrylacetat

Abzisse: Dauer des Versu-
ches in Tagen (1 Tag = 1 cm).
Ordinate: Östrogenausschei-
dung in γ (20 γ = 1 cm).
Urin-Tagesmengen in ccm
(400 ccm = 1 cm).

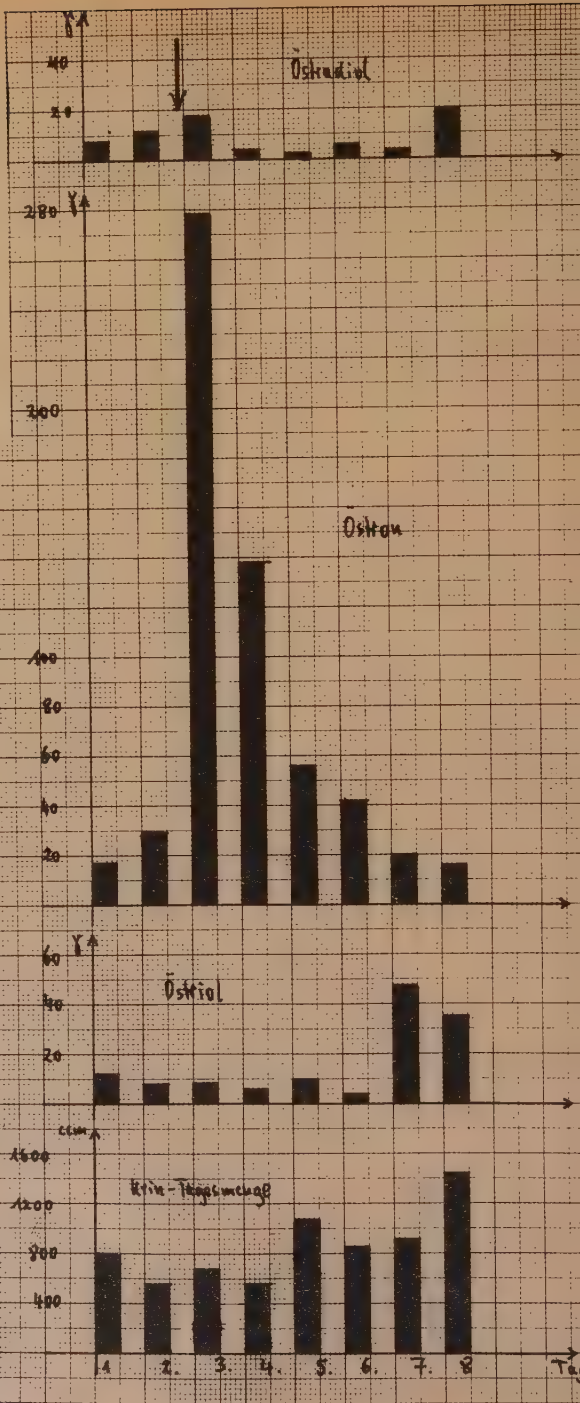


Abb. II

Graphische Darstellung der Harnausscheidung von Östradiol, Östron, Östriol und der Urin-Tagesmengen bei Injektion von 10mg Östradiolbutyrylacetat.

Abzisse: Dauer des Versuches in Tagen (1 Tag = 1 cm).
Ordinate: Östrogenausscheidung in μ (20 μ = 1 cm).
 Urin-Tagesmengen in ccm (400 ccm = 1 cm).

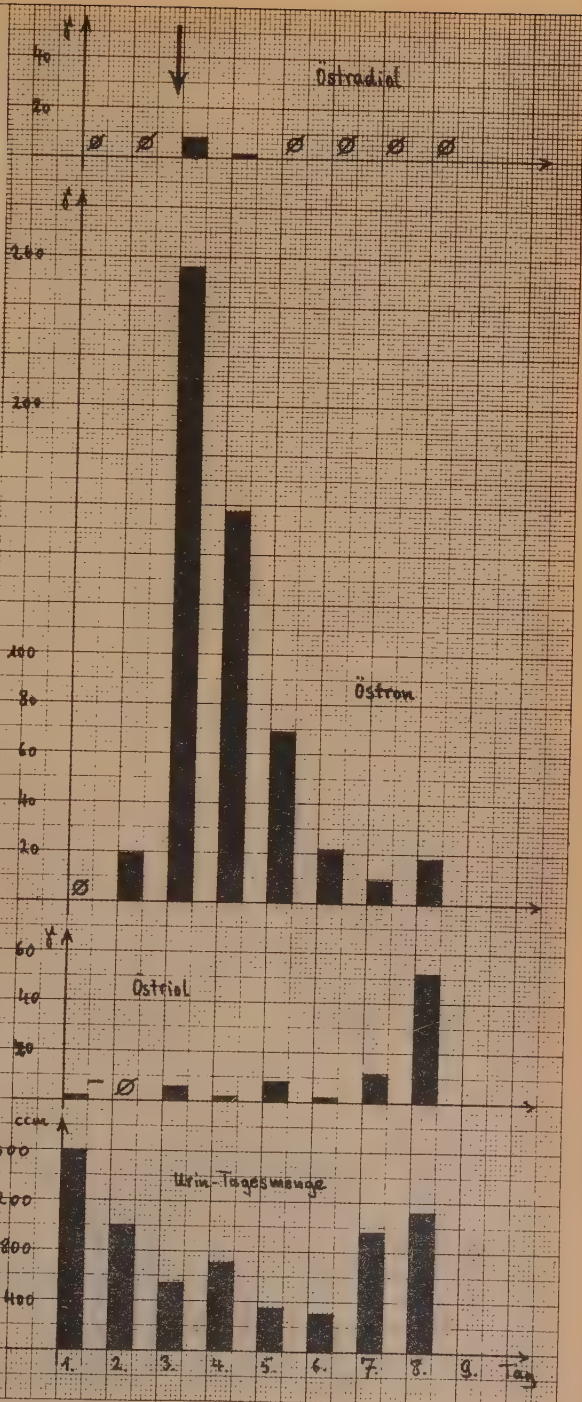


Abb. III

Graphische Darstellung der Harnausscheidung von Östradiol, Östron, Östriol und der Urin-Tagesmengen bei Injektion von 5 mg Östradiol-valerianat.

Abzisse: Dauer des Versuches in Tagen (1 Tag = 1cm).

Ordinate: Östrogenausscheidung in μ (20 μ = 1cm).

Urin-Tagesmengen in ccm (400ccm = 1 cm).

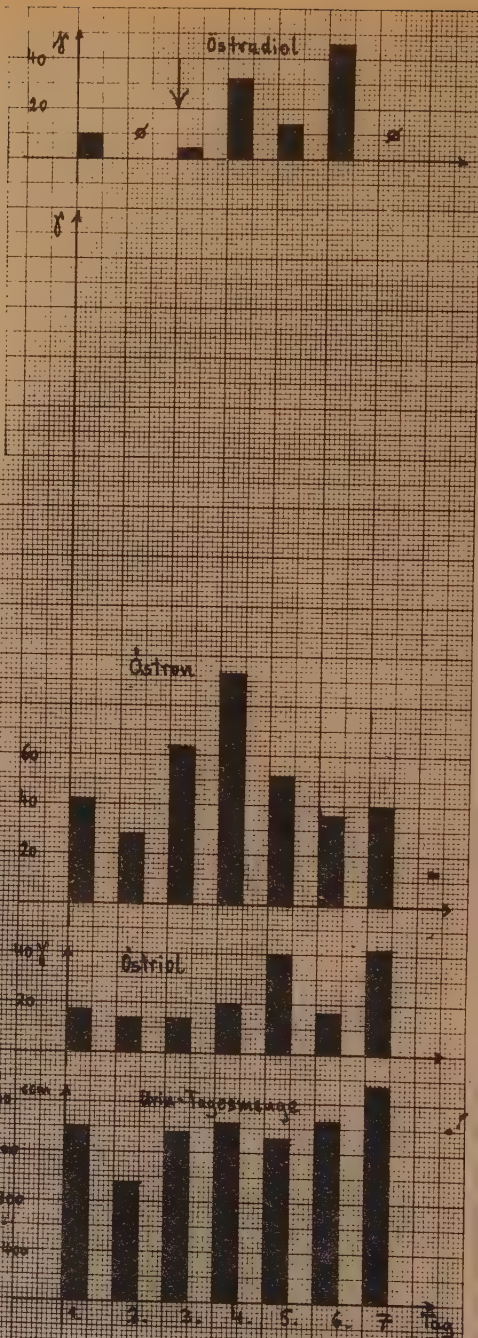


Abb. IV

Graphische Darstellung der Harnausscheidung von Östradiol, Östron, Östriol und der Urin-Tagesmengen bei Injektion von 10 mg Östradiol-valerianat.

Abzisse: Dauer des Versuches in Tagen (1 Tag = 1 cm).

Ordinate: Östrogenausscheidung in % (20% = 1 cm). Urin-Tagesmenge in ccm (400 ccm = 1 cm).

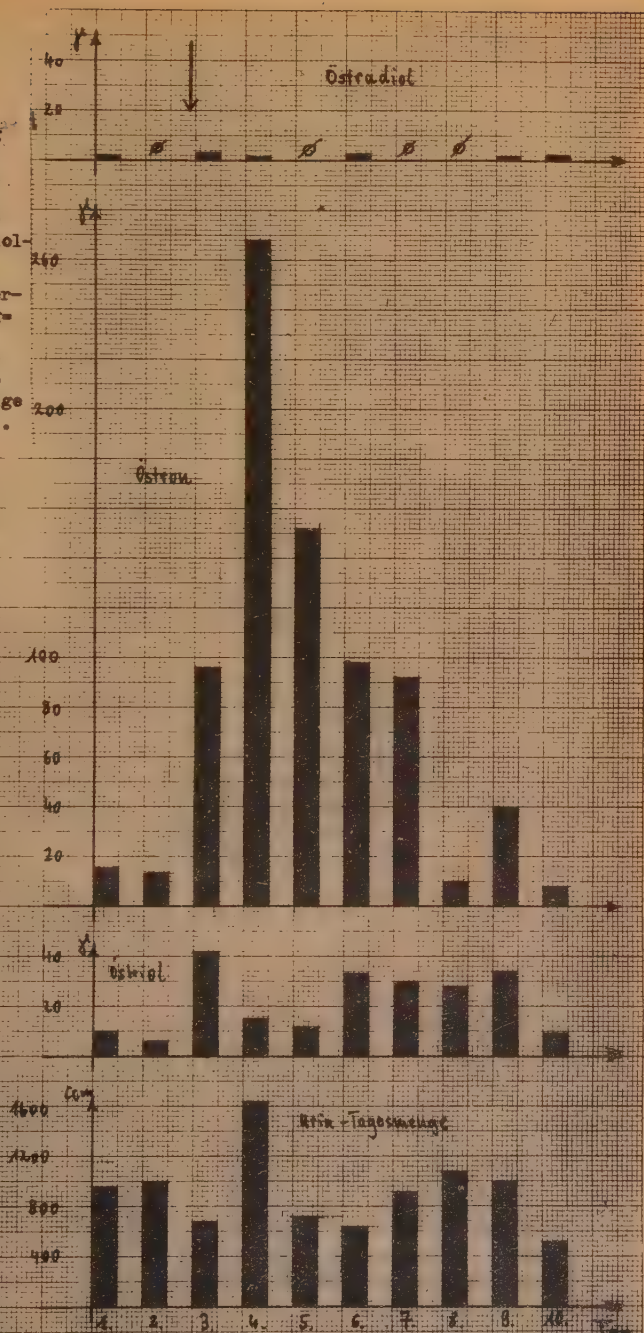


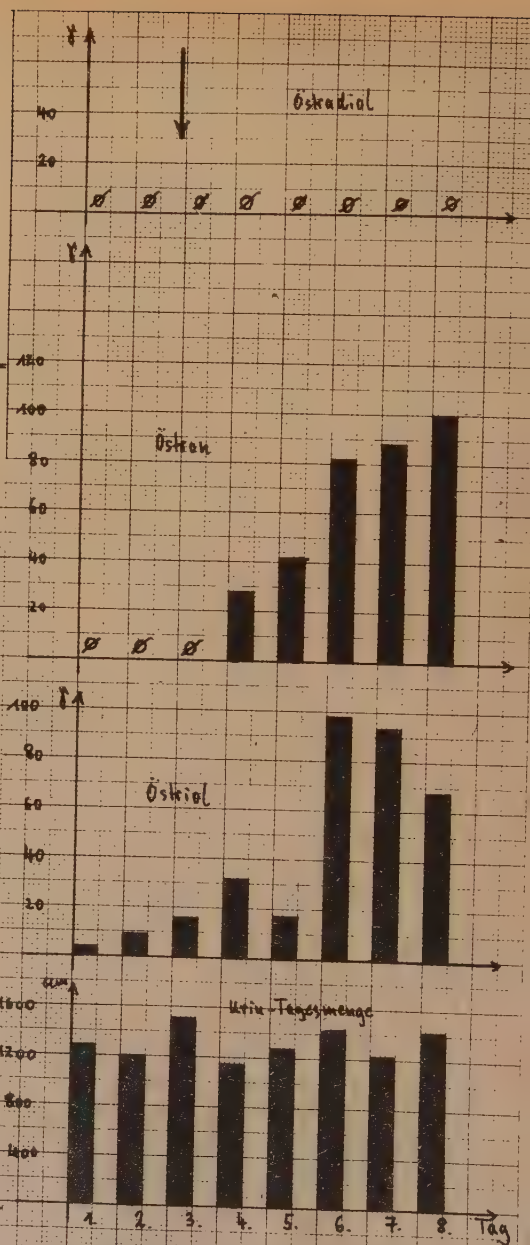
Abb.VI

Graphische Darstellung der
Harnausscheidung von Östradiol,
Östron, Östriol und der Urin-
Tagesmengen bei Injektion von
5 mg Östradiolcyclopentylpro-
pionat.

Abzisse: Dauer des Versuches
in Tagen (1 Tag = 1 cm).

Ordinate: Östrogenausscheidung
in μ . (20 μ = 1 cm).

Urin-Tagesmengen in ccm (400 ccm
= 1 cm).



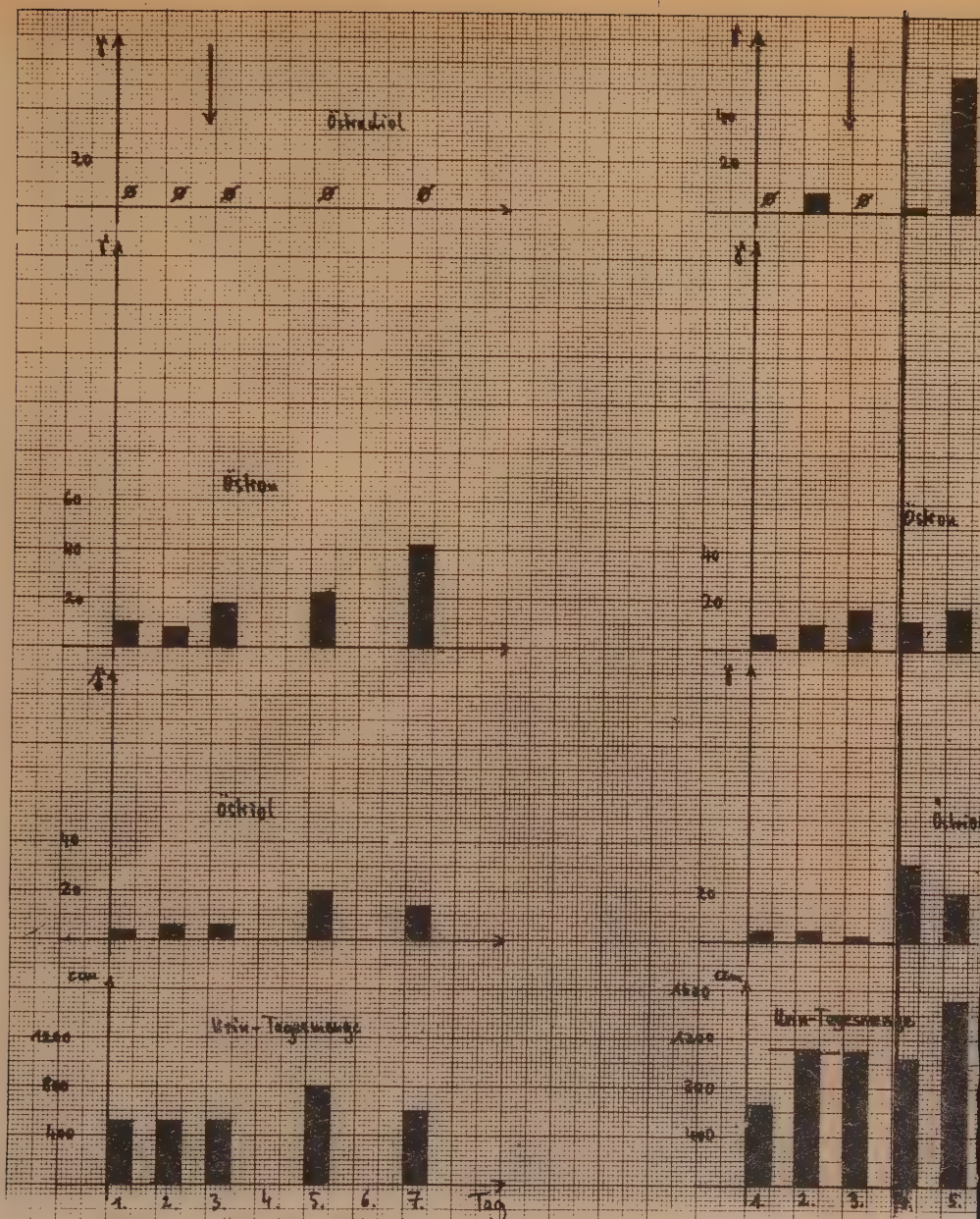


Abb. V

Graphische Darstellung der Harnausscheidung von Östradiol, Östron, und Östriol 7 mg (Abb. VII) und 10 mg (Abb. VIII) Östra diolcyclopentylpropionat in 511g

Abzisse: Dauer des Versuches in Tagen (1Tag = 1 cm). Ordinate: Östrogene

Ostrediol

8

Y A

40

20

Ostrediol

Y A

140

120

100

80

60

40

20

Ostrediol

Y A

60

40

20

Ostrediol

Klin.-Kontrollmess

1200

1000

800

600

6. 7. 8. Tag

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. Tag

VII

Abb. VIII

und der Urin-Tagesmengen bei Injektion von 5 mg (Abb.V),
 or Lösung.

ausscheidung in μ (20 μ -1cm). Urin-Tagesmengen in ccm (400 ccm -1cm).

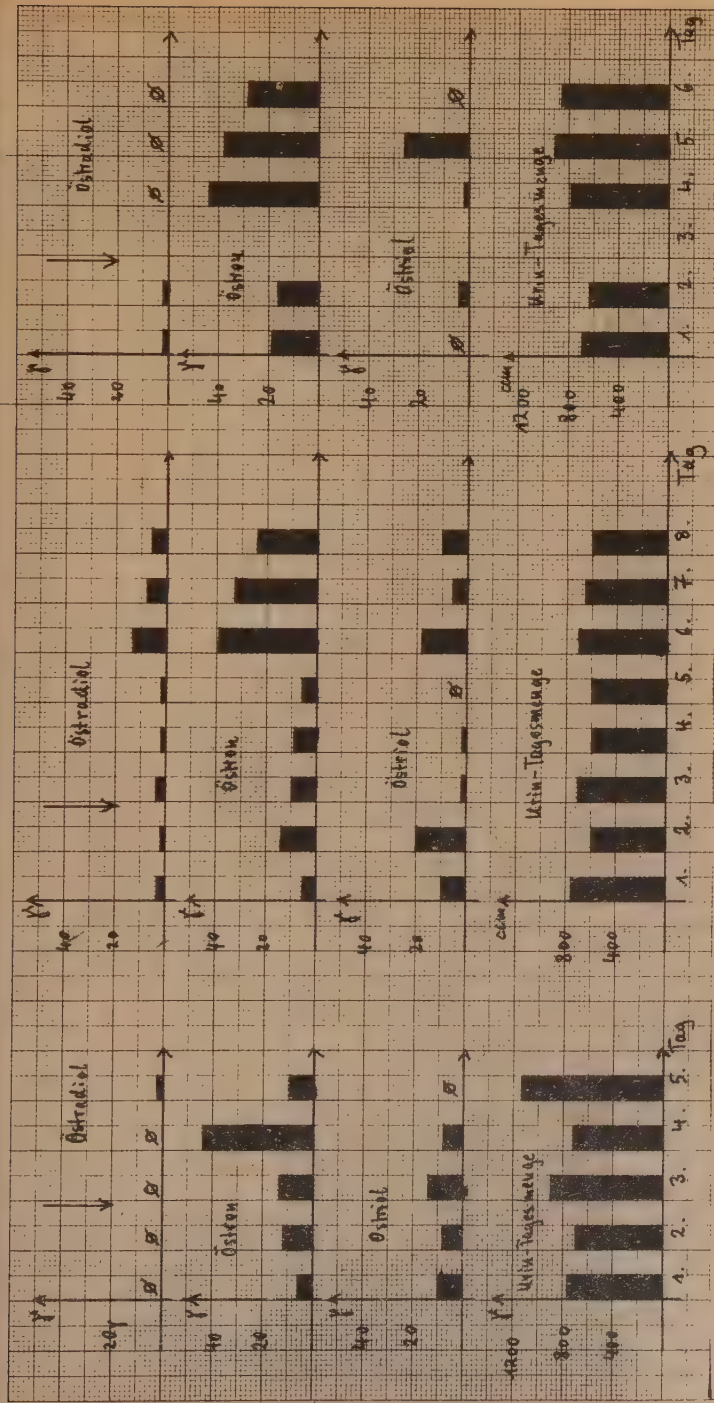


Abb. IX

Abb. X

Abb. XI

Graphische Darstellungen der Harnausscheidung von Östradiol, Östron, Östriol und der Urin-Tagesmengen bei Injektion von 5 mg (Abb. IX), 7 mg (Abb. X) und 10 mg (Abb. XI) Östradiolmonobenzoat als Kristall suspension (Korngröße bis 0,1 mm).

Ordinate: Östrogenausscheidung in μ g (20μ = 1 cm). Urin-Tagesmenge in ccm ($400 \text{ ccm} = 1 \text{ cm}$). Abszisse: Dauer des Versuches in Tagen ($1 \text{ Tag} = 1 \text{ cm}$).

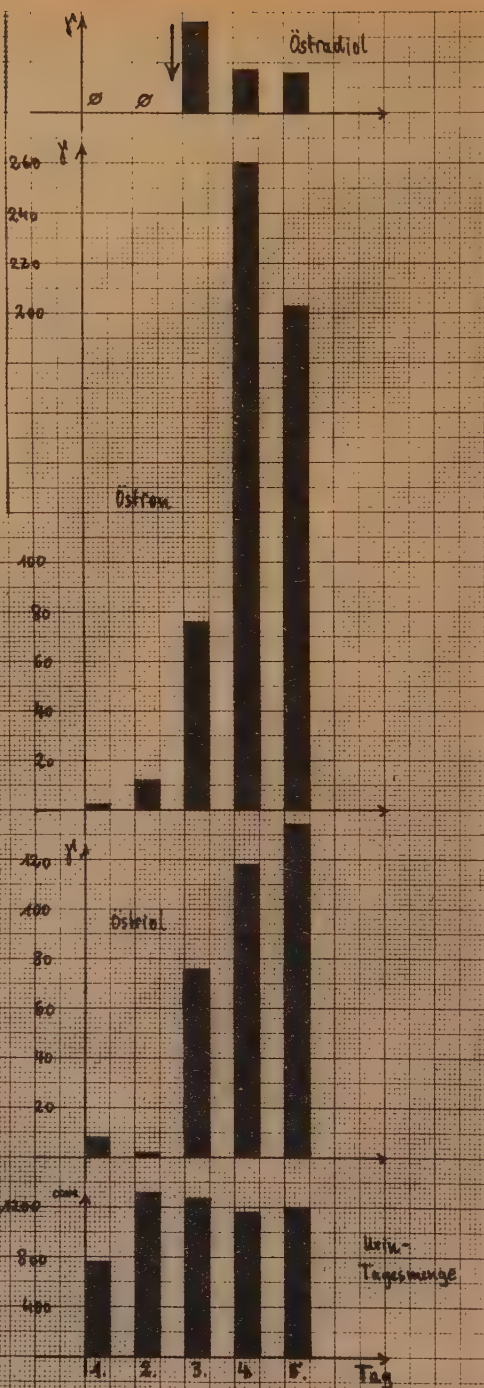
Abb. XII

Graphische Darstellung der Harnausscheidung von Östradiol, Östron, Östriol und der Urin-Tagesmengen bei Injektion von 10 mg Östradiolmonobenzoat als Kristallsuspension (Korngrösse bis 0,05 mm).

Abzisse: dauer des Versuches in Tagen (1 Tag = 1 cm).

Ordinate: Östrogenausscheidung in μ l (20 μ l = 1 cm).

Urin-Tagesmengen in ccm (400 ccm = 1 cm).



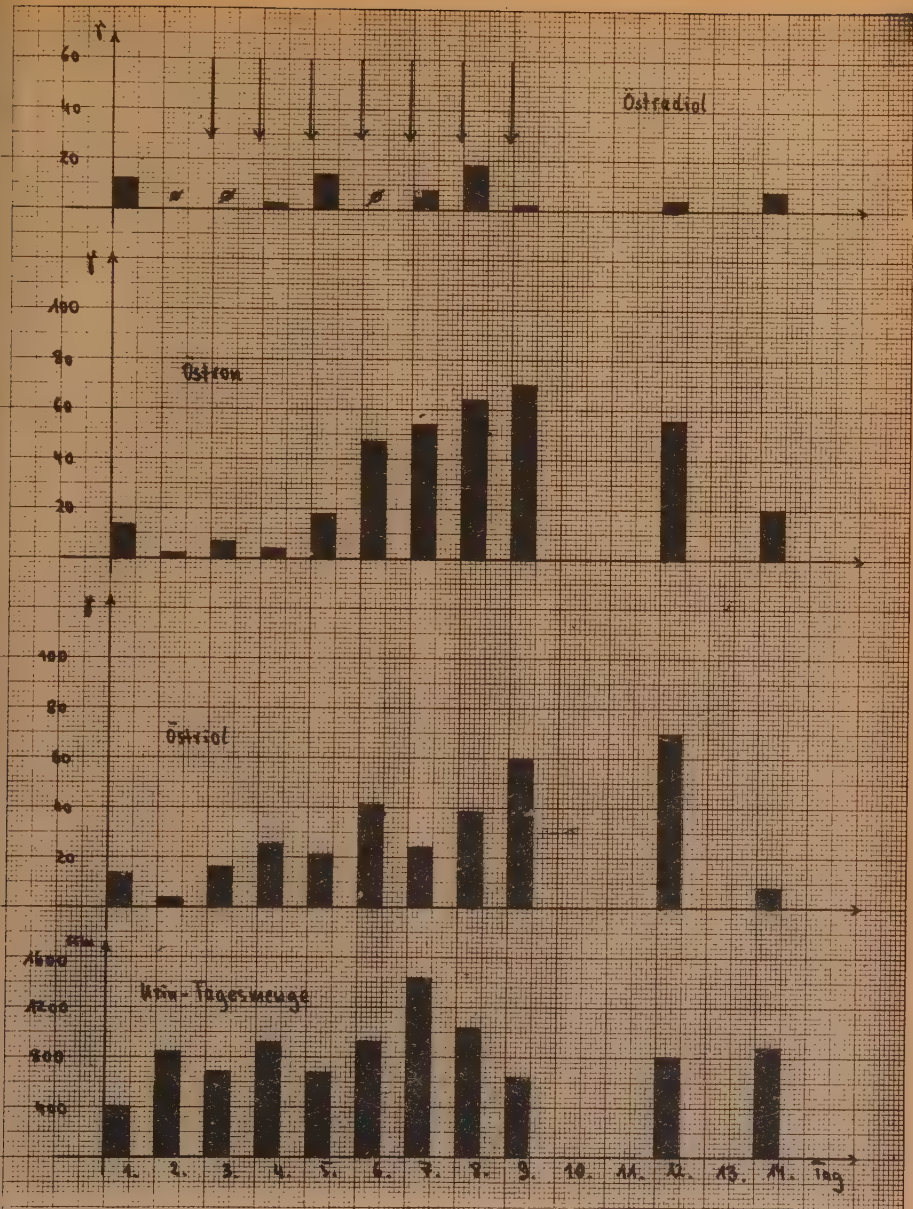


Abb. XIII

Graphische Darstellung der Harnausscheidung von Östradiol, Östron, Östriol und der Urin-Tagesmengen bei Injektion von 7xl mg Östradiol benzoat, ölgelöst.

Abzisse: Dauer des Versuches in Tagen (1 Tag = 1 cm).

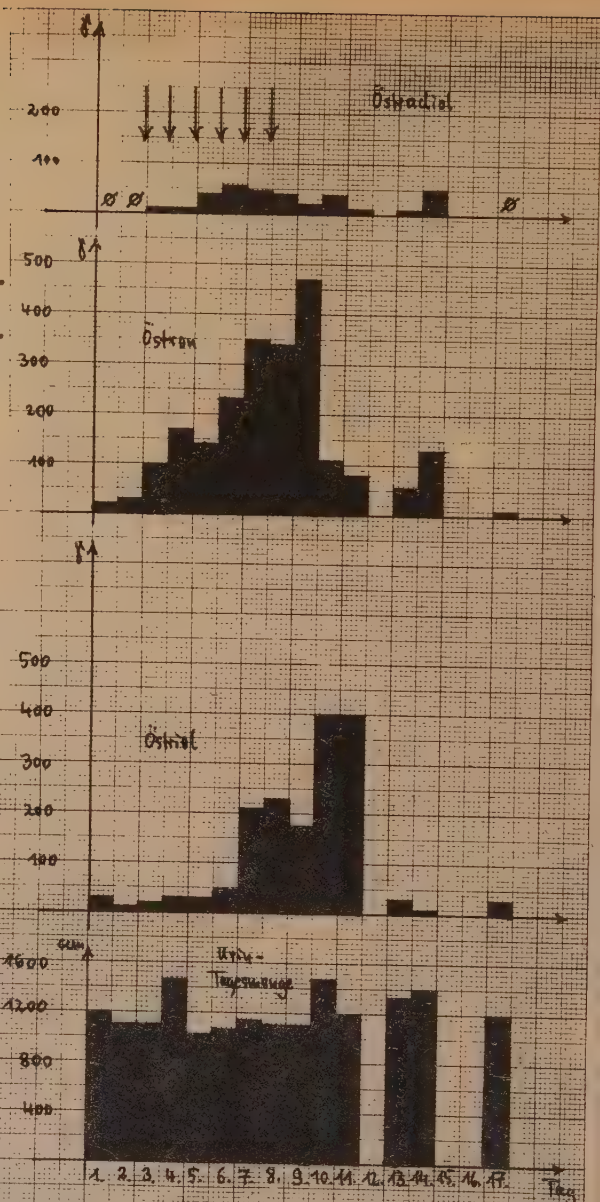
Ordinate: Östrogenausscheidung in (2o = 1 cm).

Urin-Tagesmengen in ccm (400 ccm = 1 cm).

Abb. XIV

Graphische Darstellung der
Harnausscheidung von
Östradiol, Östron, Östriol
und der Urin-Tagesmengen
bei Injektion von 6x5 mg
Östradiolbenzoat, ölgelöst.

Abszisse: Dauer des Versu-
ches in Tagen (2 Tage=1cm).
Ordinate: Östrogenausschei-
dung in μ (100 μ = 1 cm).
Urin-Tagesmengen in ccm
(400 ccm = 1 cm).



Literaturverzeichnis

=====

- 1 Allen E. und E. A. Doisy: Zit. n. Ammon-Dirscherl "Fermente, Hormone, Vitamine"
J. Amer. Med. Assoc. 81, 819; 1923 S. 320 Leipzig 1948
- 2 Allen, W. M. Clin. Endocrinol.
Simple method for analyzing complicated absorption curves of use in
colorimetric determination of urinarysteroids 10, 71-83; 1950
- 3 Ammon, R. und W. Dirscherl
"Fermente, Hormone, Vitamine" 2.Aufl. Leipzig (1948)
- 4 Amour de, F.E.: J. Clin. Endrin.
Estrogens in human urinary 3, 41; 1943
- 5 Aschheim und Hohlweg;
Über das Vorkommen oestrogener Wirkstoffe in Bitumen
Dtsch. Med. Wschr. 59, 12-14; 1933
- 6 Bachman, G.: Amer. J. Obstetr.
Exkretion of estrogen and pregnanediol preceding normal parturition
42, 599-606; 1941
- 7 Bachman, G. und D.S. Pettit:
Photometric determination of estrogens; procedure for estimation of
estrogens of pregnancy urine
J. Biol. Chem. 138, 689-704; 1941
- 7a Beck, Z., Zimmerer
Zur Frage der Sexualhormonwirkung auf die Vaginalschleimhaut bei
führender Ovarialtätigkeit
Zbl. Gynäk. 78, 161-170; 1956
- 8 Boschann, H.W. und K.A. Geese
Über die Wirksamkeit injizierbarer oestrogener und androgener Depothormone
und über Mischungen beim klimakterischen Syndrom
Ärztl. Wschr. 9, 833-837; 1954
- 9 Breitner, J.:
Quantitativ-chemische Untersuchungen über die Oestrogenausscheidung bei
der Frau und ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie der Schwanger-
schaft und des Cyclus
Arch. Gynäk. 185, 258-298; 1954

- 10 Breitner, J. und A. Eichstädter:
Zur Methodik der quantitativ-chemischen Oestrogenbestimmung im Harn
Ärztliche Forschung 8, 457-462; 1954
- 11 Breuer, Nocke, Geissler, Mitchell:
Zur Bestimmung der Oestrogene im Urin
Klin. Wschr. 672-674 (1957)
- 12 Brody, S. und A. Westman:
Effects of oestradiol and progesterone on the nucleic acid and protein
content of the rabbit uterus
Acta endocr. 27, 493-498; 1958
- 13 Brown, J.B. :
Chemical method for determination of oestriol, oestron and oestradiol in
human urine
Biochemic. 60, 185-193; 1955
- 14 Brown, Lancet
Urinary excretion of oestrogens during menstrual cycle 1, 320-323; 1955
- 15 Brown, J.B.: Lancet
Urinary excretion of oestrogens during pregnancy, lactation and
re-establishment of menstruation 1, 704-707; 1956
- 16 Brown, J.B. :
The relationship between urinary oestrogens and oestrogens produced
in the body
J. Endocrin. 16, 202-212; 1957
- 17 Brown, The urinary excretion of oestrogenes, pregnanediol and gonadotropins
during the menstrual cycle 17, 401-410; 1958 J. Endocrin.
- 18 Bulbrook, Greenwood, Williams:
Comparison of biological and chemical estimations of urinary oestrogens
J. of Endocrin. 15, 206-210; 1957
- 19 Buschbeck; Die quantitativen Faktoren der Oestrogenwirkung
Münch. Med. Wschr. 94, 2471-2478; 1952
- 20 Butenandt, A.:
Über die Reindarstellung des Follikelhormones aus Schwangerenurin
(Untersuchungen über das weibliche Sexualhormon)
Ztschr. f. physiol. Chemie 191, 127-139; 1930

- 21 Butenandt: Chemical constitution of follicular and testicular hormones
Natures, London 130, 238-242; 1933
- 22 Butenandt, A. und Browne J.S.J.
Vergleichende Untersuchung von Theelöl, Emmenin und Follikelhormonhydrat
Untersuchungen über das weibliche Sexualhormon
Ztschr. f. physiol. Chem. 216, 49-56; 1934
- 23 Butenandt, A. und Goergens:
Über α - und β -Oestradiol
Zeitschr. für physiol. Chem. 248/129-141; 1937
- 24 Castillo del, E.B. und J. Argonz:
Extendidos del sedimento urinario; su utiladad para deferminar la
actividad estrogenica: Acta physiol. lat. americ. ref. Ber. Ges. Gyn.
53, 62 (1954) 3, 85-88; 1953
- 25 Cohen, S. L. und G. F. Marrian:
Application of Kober-Test to quantitative estimation of oestrone and oestriol
in human pregnancy urine
Biochemic. J. 28, 1603-1614; 1934
- 26 Cohen H. L. und R. W. Bates:
Simple quantitative colorimetric method for estrogenic steroid
J. Clin. Endocrin. 7, 701-707; 1947
- 27 Cook, Dodds, Hewett und Lawson:
Oestrogenic activity of somecondensed-ring compounds in relation to their
other biological activities
Proc. roy. Soc. Lond. B 114; 272-286; 1934
- 28 Cramer, H. und W. Eschbach:
Über gesteuerte Follikelhormonwirkungen
Z. Geburtsh. 149, 196-214 (1957)
- 29 Demol, R. Belg. Tijdschr. Genessk
Effects and duration of activity of certain estrogenic substances
11, 1185-91; 1955
- 30 Diczfalusy, E. und M. Halla:
Urinary excretion of natural oestrogens in oophorectomized women treated with
polyoestradiol phosphate (PEP)
Acta endocrinol. 21, 321-336; 1956

- 31 Dicsfalussy, E. und M. Halla
The detection of an epimeric oestrid in placental extracts
Acta endocrinol. (Kobenh.) 27, 303-313; 1958
- 32 Dingemans, E. und E. Laqueur:
Excreción de hormonas estrogénas en la orina de mujeres durante el
ciclo menstrual
An. Fac. de med. de Montevideo 25, 561-563; 1940
- 33 Dodds, Fitzgerald und Lawson:
Oestrogenic activity of some hydrocarbon derivatives of ethylene.
Nature (Brit.) 140; 772; 1937
- 34 Doisy, E.A., C.D. Veler und S.A. Thayer:
Isolation of Menformon in human urinary
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 27, 417-419; 1929
- 35 Doisy, E.A. und J.M. Curtis:
Bioassay of theelin
J. Biol. Chem. 91, 647-651; 1931
- 36 Doisy, E.A., Mc Corquodale und S.A. Thayer:
a) Proc. Soc. exper. Biol. u. Med. (Am.)
Crystalline ovarian follicular hormone 32, 1182; 1935
b) J. Biol. Chem. (Am.)
Isolation of principal estrogenic substance of liquor folliculi
115, 435-448; 1936
- 37 Doisy, E.A., G.V. Smith, O.W. Smith, Huffmann, S.A. Thayer und Mc.
Corquodale: Zit. n. Ammon-Dirscherl; "Fermente, Hormone, Vitamine", 1950, S. 28
J. Biol. Chem. (Am.) 134, 591-604; 1940
- 38 Doisy, E.A., Huffmann und S.A. Thayer:
Isolation of α -dihydrotheelin from human pregnancy urine
J. Biol. Chem. (Am.) 133, 567-571; 1940
- 39 Döring, Loeschke und Ochardt:
Weitere Untersuchungen über die Wirkung der Sexualhormone auf die Atmung
Arch. ges. Physiol. 252, 216-230; 1950
- 40 Drescher, J.: Über die Bedeutung chemischer Sexualhormonanalysen
Dtsch. Gesundheitswesen 156-159; 1958

- 41 Edelbacher und F. Leuthardt:
"Physiologische Chemie"; 1955
- 42 Eichenberger E. und K. Hofmann:
Hormonbestimmungen bei Spätgestosen
Gynäcologia 133, 129-140; 1952
- 43 Evans J.S. und Long:
Zit. n. Ammon-Dirscherl ;Fermente, Hormone, Vitamine" S. 327, 1950
Mem. Univ. California 6; 1922
- 44 Evans, J.S., Varney:
Estrogen effects on rat uterus
J. biol. Chem. (Am.) 140, Proc. 38; 1941
- 45 Evans, J.S., Varney und V.C. Koch:
Mouse uterine weight method for assay of estrogens
Endokrinologie (Am.) 28, 747-752; 1941
- 46 Finkelstein, M.:
Microdetermination of steroid estrogens in urine by fluorimetry
Biol. a. Med. 69, 181-184; 1948
- 47 Fluhmann, C.F.: Anterior pituitary hormone in blood of woman
Endocrinology 15, 177-183; 1931
- 48 Friedgood-Garst, H.B. und J.B. Hagen-Smith:
New method for separation of androgens from estrogens and for partition of
estriol from estrone-estradiol fraction with special reference to identi-
fication and quantitative microdetermination of estrogens by ultraviolet
absorption spectrophotometry; J. Biol. chem. 174, 523-524; 1948
- 49 Furuhjelm, M. und R. Waller:
Estimation of oestrogenic substances in urine
Acta endocrinol. (Kobenh.) 27, 482-492; 1958
- 50 Geigy: Wissenschaftliche Tabellen Basel; 1955
- 51 Gerli, M.: Sulla possibilità di determinare nel ratto l' insorgenza di miofi-
bromi sperimentali de estrogeni
Arch. ostet. e. ginecol. 55, 522-551; 1951
- 52 Girard, Fridenson, Sandulesco und Rutgers:
sur une nouvelle hormone sexuelle cristallisée retirée de l' urine des
juments gravides C.r. Acad. Sci. Paris 194, 909-911; 1932

- 53 Gustavson, R.G., L.W. Mason, E.E. Hays, Th.R. Wood and F.d'Amour:
Quantitative determination of estrogenic substances in normal Female
urine during menstrual cycle
Amer. J. Obstetr. 35, 115-123; 1938
- 54 Gutman, Andrada, Blatt, Epstein, Kuppermann:
Long acting estrogens in amenorrhoe and menopause
Obstetr. a. Gynaekol. 10, 261-265; 1957
- 55 Hain, A.M.: Excretion of oestrogen and pregnanediol by pregnant and
parturient
J. Endocrinol. 2, 104-140; 1940
- 56 Haour, P., G. Lauras et Guyot:
Oestrogenes et pff vaginal
Cr. Soc. Franc. Gynec. 28, 97-98; 1958
- 57 Hermann, U.: Der zytologische Abstrichtyp bei Frauen mit klimakteri-
schen Beschwerden
Gynaecologia (Basel) 144, 303-307; 1957
- 58 Heusghem, C. und W.V. Verly;
In vivo metabolism of radio-äctive estrone
Acta physiol. pharm. neerl. 4, 139-140; 1955
- 59 Huber, A.: Über den Einfluss der Ovarialhormone auf die Glykogenbildung
Gynaecologia (Basel) 146, 111-116; 1958
- 60 Humm, F.D., P.L. Munson und W.F. Salter:
Fluormetric determination of estrogens in femal urinary
J. Clin. Invest. 23, 790; 1949
- 61 Hübner, K.A., A. Puck: Ein Vergleich zwischen der Wirkung von Oestriol
in kleinsten Mengen und Ovarialtotalextrakten
Zbl. Gynäk. 80, 459-462; 1958
- 62 Ittrich: Beitrag zur Follikelhormonbestimmung
Dtsch. Gesundheitswesen 5, 159; 1958
- 63 Jailer, J.W.: Fluormetric method for determination of estrogens
Endocrinology 41, 198-201; 1947
- 64 Jailer, J.W.: Fluormetric method for cinical determination of estrone
and estradiol
Clin. Endocrin. 8, 564-579; 1948

- 65 Jayle, M.F.:
Détermination des stéroïdes urinaires au cours de la gestation.
Presse med. 60, 377-378; 1952
- 66 Jayle M.F.:
Applications gynécologiques du dosage des phénolstéroïdes urinaires
Ref. Ginecol. (Rio de Janeiro) 100, 323-338; 1957
- 67 Kaiser R. und A. Eichstädter:
Das Ausscheidungsverhältnis Oestriol: Pregnandiol in Cylus und Schwangerschaft
Arch. Gynäk. 185, 726-738; 1955
- 68 Kaiser R.:
Die hormonale Behandlung von Zyklusstörungen.
Thieme, Stuttgart; 1958
- 69 Kaiser R.:
Habilitationsschrift, München; 1958
- 70 Kaiser R.:
Zur Physiologie und Pathologie der Corpus-luteum-Funktion
Geburtsh. u. Frauenheilk. 18, 655-659; 1958
- 71 Keller M.:
Die Extraktion und Bestimmung von Phenolsteroiden im Urin
Gynaekologia 136, 358-369; 1953
- 72 Kleiner: Zit. n. Pschyrembel W. und G. Haler: Ein neues Verfahren zur
getrennten Bestimmung der oestrogenen Hormone auf Grundlage des Kobertests.
Hoppe-Seylers Z. 306, 154-164; 1957
- 73 Kober S.: Eine kolorimetrische Bestimmung des Brunsthormes
Biochemic. J. 239, 209-212; 1931
- 74 Kober S.: Colorimetric estimation of oestrogenic hormones
Biochemic. J. 32, 357-365; 1938
- 75 Laqueur E., E. Dingemans, de Jongh und S. Kober:
Über kristallinisches Menformen
Dtsch. Med. Wschr. 56, 301-304; 1930
- 76 Lawrence und Werthessen:
Endocrine dyscrasia of acne vulgaris in woman
Endocrinology 27, 755-758; 1940

- 77 Lehnarzt E.:
Chemische Physiologie 10 Aufl.; 1952
- 78 Leuthardt, F. und Th. Koller:
Das quantitative Verhalten der oestrogenen Stoffe bei intrauterinem Fruchttod
Zbl. Gynäk. 65, 1972-199; 1941
- 79 Levitz M., G.P. Condon und J. Dancis
Interconversion of estrone and estradiol in perfused human placenta
Endocrinology 58, 376-380; 1956
- 80 Loewe: Zit. n. Ammon-Dirscherl "Fermente, Hormone, Vitamine" 1948 S. 322
Klin. Wschr. 1407; 1925
- 81 Loke K.H., E.J.D. Watson, G.F. Marrian:
The isolation of a sixth Kober chromogen from the urine of pregnant woman.
and its provisional identification as 18-hydroxyoestrone
Biochem. et. biophysica acta (Amsterd.) 26, 230-231; 1957
- 82 Markee J.A.:
Rhythmic vascular uterine changes
Am. J. Physiol. 100, 32-39; 1932
- 83 Markwardt und K. Repke:
Die Reduktion von Oestron zu Oestradiol-17 β durch das Glucose-6-phosphat-
Dehydrogenasesystem
Arch. exper. Path. und Pharm. 224, 341-347; 1955
- 84 Marrian G.F.:
Chemistry of oestrin; improved method of preparation and isolation of active
crystalline material
Biochem. J. 24, 435-445; 1930
- 85 Marrian G.F.:
Newly discovered urinary oestrogen metabolites
Acta endocrin. 24, Supp. 31 27-28; 1957
- 86 Marrian G.F.:
The urinary estrogens and their quantitative determination
Cancer Philadelphia 10, 704-706; 1957
- 87 Mayer Ch.:
Zit. n. Breitner J.
Arch. Gynäk. 185, 260; 1954

- 88 Mc Bride J.M.:
Estrogen excretion levels in the normal postmenopausal woman
J. Clin. Endocrin. a. Metabolism 17, 1440-1447; 1957
- 89 Möller-Christensen, R. und K. Pedersen-Bjergaard:
Untersuchungen über die Ausscheidung von Oestrin und gonadotropen
Hypophysenvorderlappenhormon bei einem Fall von Aplasia vaginae et uteri
Zbl. Gynäk. 61, 830; 1937
- 90 Muth H.:
Über die oestrogene Funktion in der Menopause unter besonderer Berücksichtigung pathologischer Veränderungen des inneren Genitale
Geburtsh. und Frauenheilk. 15, 839-846; 1955
- 91 Nakao T. und Y. Aizawa:
On microflurimetric separatory determination of estrogens in blood and urine; Second report.
Endocrin. jap. 3, 92-97; 1956
- 92 Napp J.H.:
Oestrogen- und Pregnanoliolausscheidung im Wochenbett
Geburtsh. und Frauenheilk. 18, 607-608; 1958
- 93 Niederhofer M. und A. Puck:
Die Nebennierenrindenfunktion nach der Laparatomie
Arch. Klin. Chir. 272, 457-469; 1953
- 94 Norreel J. und Ch. J. Polles:
Oestrogen levels in urine in gynecology
Ref. Franc. Gynéc 51, 248-252; 1956
- 95 Nyklicek O.:
Contribution to the question of endocrinological menopause
Ceskoslov. Gynaekol. 22/36, 201-206; 1957
- 96 Parkes A.S.:
Relative duration of action of various esters of oestrone, oestradiol and oestriol
Biochem. J. 31, 579-585; 1937

- 97 Pearlman W.H.:
Chemistry and Metabolism of Estrogens in: Pincus-Thiman: Theo Hormone, New York; 1949
- 98 Pradbury, Brown und Gray:
Estrogen effects on vaginal epithelial cells
Recent. Progr. in Hormone Res. 5, 151; 1950;
- 99 Preedy J.R. und E.H. Aitken:
Plasmaoestrogen levels in late pregnancy, in the normal menstruating female, and in the male.
Lancet I 272, 191-192; 1957
- 100 Probst V. und Roth O.A.:
Über die Bedeutung des Vaginalabstriches zur Erkennung des Follikel-hormonspiegels
Med. Welt, Stuttgart 20, 590-592; 1951
- 101 Prosdocimi U.:
Attualità Ostetr. e Ginecol. 3, 991; 1957
- 102 Pschyrembel L.W. und G. Halder;
Kritische Bemerkungen zum Beitrag Josef Breitner: Quantitativ-chemische Untersuchungen über die Oestrogenausscheidung bei der Frau und ihre Bedeutung für die Physiologie und Pathologie der Schwangerschaft und des Zyklus.
Arch. Gynäk. 187, 112-114; 1955
- 103 Pschyrembel W. und G. Halder:
Ein neues Verfahren zur getrennten Bestimmung der oestrogenen Hormone auf der Grundlage des Kobertestes.
Hoppe-Seylers Z. 306, 154-164; 1957
- 104 Puck A. und K.A. Hübner:
Die Wirkungen des Oestriols auf Uterus und Vagina des Kaninchens und Meerschweinchens und auf die Symphyse des Meerschweinchens.
Acta endocrinol. 22, 191-202; 1956
- 105 Puck A., W. Korte, K.A. Hübner:
Die Wirkung des Oestriol auf Corpus uteri, Cervix uteri und Vagina der Frau - Untersuchungen mit grossen (30 mg) und kleinsten Dosen (50 μ).
Dtsch. Med. Wschr. 44, 1864-1866; 1957

- 106 Puck A.:
Eine Methode zur chemischen Bestimmung von Oestradiol, Oestron und Oestriol im peripheren Blut der Frau
Klin. Wschr. 16, 808-812; 1957
- 107 Puck A.:
Die Werte des Oestradiol, Oestron und Oestriol im peripheren Blut der Frau
Geburtsh. und Frauenheilk. 18, 998; 1958
- 108 Putzig G.
Diss med., München; 1958
- 109 Runge H. und C. Clausnitzer:
Quantitative Untersuchungen über die Ausscheidung von Follikel- und Hypophysenvorderlappenhormon bei Schwangeren mit abgestorbener Frucht sowie im normalen Wochenbett
Zbl. Gynäk. 2450-2459; 1932
- 110 Ryan und Engel:
Interconversion of estrone and estradiol by human tissue slices
Endocrinology 52, 287-291; 1953
- 111 Seitz und Wirtz:
Die Abhängigkeit der Röntgenamenorrhoe vom Menstruationszyklus sowie von der Grösse und Verteilung der Dosis.
Münch. Med. Wschr. 66, 475; 1919
- 112 Schlösser:
Zit. n. Putzig: Diss. med., München 1958
Geburtsh. und Frauenheilk. 16, 917; 1951
- 113 Schwenk und Hildebrandt:
Farbreaktionen der Follikelhormone
Biochem. Ztschr. 259, 240-242; 1933
- 114 Siebke H.:
Ergebnisse von Mengenbestimmungen des Sexualhormones; Sexualhormon im Harn bei regelmässigem mensuellem Cyclus.
Zbl. Gynäk. 54, 1601-1613; 1930
- 115 Smith O.Q., G.V. Smith und G. Pincus:
Total urinary estrogen, estron and estriol during menstrual cycle and pregnancy
Amer. J. Physiol. 121, 98-106; 1937

- 116 Smith O.W., G.V. Smith und S. Schiller:
Clinical experiments in relation to excretion of estrogens
Amer. J. Obstetr. 45, 15-22; 1943
- 117 Stevenson R. und G.F. Marrian:
Determination of oestrogens in human pregnancy urine; new method of
correction for brown colour developd in Kober reaction by non-oestrogenic
substances
Biochem. J. 41, 507-511; 1947
- 118 Stimmel B. und G. Stealy:
Study of metabolism of single therapeutic doses (2,0 mg) of estrone in
preovulatory and postovulatory phases of menstrual cycle in healthy woman.
J. Clin. Endocrin. 12, 489-494; 1952
- 119 Stockard C.R. und G.N. Papanicolaou:
Zit. n. Ammon-Dirscherl "Fermente, Hormone, Vitamine"
Leipzig 1948 S. 320
Amer. J. Anat. 22, 225; 1917
- 120 Struthers R.A.:
Postmenopausal oestrogen production
Brit. Med. J. Nr. 4979 1, 1331; 1956
- 121 Talbot N.B., Wolfe, Mc. Lachlan und Butler:
Colorimetric assay of weakly phenolic Ketones, "estrone", in extracts of
human urine
J. Biol. Chem. 134, 319-330; 1940
- 122 Taylor:
Fortschritte in der gynäkologischen Endokrinologie
Geburtsh. und Frauenheilk. 10, 709-735; 1949
- 123 Ten Berge B.S., A. Weeke, A. Groen:
Oestriolbestimmung während der Schwangerschaft
Arch. Gynäk. 189, 140-143; 1957
- 124 Tompsett S.L.:
Chemical determination of estrogens in human urine
Glasgow M.J. 31, 139-150; 1949

- 125 Varangot J., A. Seeman und L. Cédard:
Quantitative fluorimetric determination of blood estrogens
C. rend. Soc. Biol. 150, 923-927; 1957
- 126 Venning, Evelyn, Harkness und Browne:
Determination of estrin in urine with photoelectric colorimeter
J. Biol. Chem. (Am) 120, 225-237; 1937
- 127 Voza F. und F.E. Mansani: Sull' attività estrogenica.
Ann. Ostet. Ginecol. 79, 1225; 1957
- 128 Wenner R.:
Follikelhormonbestimmungen im Blut und Urin während Schwangerschaft, Geburt u.
Frühwochenbett
Zbl. Gynäk. 65, 268-278; 1941
- 129 Wied G.L.:
Oestradiolvalerinanat und Oestradiolundecyclat; zwei neue protrahiert
wirkende Oestrogene. Wirkungsvergleich mit Oestradiolbenzoat.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 14, 45-52; 1954
- 130 Wied G.L.:
Cytologic changes of vaginal epithelial cells and leukorrhea following
estrogenic therapie
Amer. J. Obstetr. und Gynecol. 70, 51-59; 1955
- 131 Wieland H. und H. Dane:
Zit. n. Edelbacher und F. Leuthardt " Physiologische Chemie" 1955 S. 268
Hoppe-Seylers Z. 210/274; 1932
- 132 Wintersteiner, Schwenk und Whitman:
Estrogenic dihydroxy compounds in urine of pregnant mares
Proc. Soc. expo. Biol. a. Med. (Am) 32, 1087-1088; 1935
- 133 Wintersteiner, Schwenk, Hirschmann und Whitman:
B-estradiol
J. Biol. Chem. 118, 789-795; 1936
- 134 Wintersteiner und Hirschmann:
Isolation of estrogenic diols from urine of pregnant mares
J. biol. Chemico. (Am) 1122, 303-321; 1937

- 135 Young S., R.D. Bulbrook und F.C. Greenwood:
The correlation between urinary oestrogen and vaginal cytology
Lancet 272, 350-353; 1957
- 136 Zacutti A. und F. Baisi:
Valore comparativo dell'indice acidofilo e cariopicuotico nella
valutazione cito-ormonale dell'attività estrogene
Riv. ital. Ginec. 40, 370-384; 1957
- 137 Zimmermann: Chemische Bestimmungsmethoden von Steroidhormon,
Springer Berlin - Göttingen - Heidelberg; 1955
- 138 Zondek B.: "Die Krankh. d. endokr. Drüsen"
B. Schwabe.; 1953

Lebenslauf.

Ich, Karl Ludwig Barth, wurde am 19. März 1935 in München geboren als erstes Kind des Facharztes für Nerven- und Gemütskrankheiten Dr. Maximilian Barth und seiner Ehefrau Gertrud, geborenen Wagner. Im Jahre 1939 zogen meine Eltern nach Günzburg/Donau, wo ich von September 1941 bis Juli 1945 die Volksschule besuchte. Von November 1945 bis Oktober 1952 war ich Schüler des Städtischen Humanistischen Gymnasiums in Günzburg. Von Mai 1951 bis April 1952 war ich vom Schulunterricht befreit. Ich verbrachte das Jahr auf Teneriffa/Kanarische Inseln, um die spanische Sprache zu erlernen. Von November 1952 an besuchte ich das Humanistische Gymnasium in Windsbach/Mittelfranken, wo ich im Juli 1954 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1954/55 begann ich das Studium der Medizin an der Albert - Ludwigs - Universität in Freiburg/Breisgau, wo ich bis zum Sommersemester 1955 blieb. Vom Wintersemester 1955/56 an studierte ich 3 Semester an der Westfälischen Wilhelms - Universität in Münster. Dort bestand ich am 3. Mai 1957 die ärztliche Vorprüfung. Seit dem Sommersemester 1957 bin ich Student der Ludwig - Maximilians - Universität in München. Nach Abschluß des 11 - semestrigen Fachstudiums habe ich mich im Februar 1960 zur medizinischen Hauptprüfung gemeldet.

Ich danke Herrn Privatdozenten Dr. Rudolf Kaiser für die Überlassung des Themas und die Beratung bei der Anlage und Auswertung der Experimente. Herrn Professor Dr. Werner Bickenbach danke ich für die freundliche Übernahme des Referates.

